

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE DRECHES DE CERVEJA NA DIGESTIBILIDADE, ACTIVIDADE FERMENTATIVA E MORFOLOGIA INTESTINAL DO LEITÃO AO DESMAME

Carlos André Sanches Martins

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientador: Doutor João Pedro Bengala Freire

Co-orientador: Doutor Mário António de Silva Pinho

Júri:

Presidente: Doutor Rui Manuel Vasconcelos Horta Caldeira, Professor Catedrático da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutor João Pedro Bengala Freire, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor Mário António de Silva Pinho, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Lisboa, 2009

Agradecimentos

“Pelo sonho é que vamos”, escreveu Sebastião da Gama, poeta da minha terra. Contudo, para que o sonho se realize é necessário a ajuda de muitas pessoas com as quais temos a sorte de nos cruzar pela vida fora. Neste momento em que estou a concretizar um grande sonho, tenho de agradecer o fundamental apoio que tive:

- Ao Prof. Dr. João Pedro Bengala Freire, meu orientador, pela sugestão do tema, apoio prestado e paciência revelada; Ao Prof. Mário Pinho, co-orientador, pela preciosa ajuda na parte histológica do trabalho.
- Aos meus pais, por sempre me procurarem encaminhar na direcção certa, por terem feito de mim aquilo que sou...e pelo que ainda não sou!
- Aos meus avós e restante família por sempre me apoiarem e gostarem tanto de mim.
- À Raquel...simplesmente por tudo!
- A todas aquelas pessoas, mais novas ou mais velhas, das quais tenho sentido sempre um apoio sincero e com as quais tenho vivido momentos que não se esquecem.
- A todos os professores, especialmente os que leccionaram as disciplinas mais específicas do curso de forma a que eu me apaixonasse completamente pela zootecnia e os que, pela sua forma de ser, me tocaram em especial.
- Ao Sr. José António pelo “ofício” com que me ajudou com os leitões e à D. Lígia Fortes, D. Cesaltina e D. Lurdes pela preciosa ajuda nas análises.
- A todos os bons colegas e amigos que fizeram com que esta minha passagem pelo ISA já me deixe cheio de saudades mesmo antes de partir.

Abstract

In order to study the effect of brewer's spent grain in digestibility, consistency of faeces, intestinal fermentations and morphology of the intestinal wall, 32 piglets, weaned at 28 days of age were distributed in 4 blocks of 8 animals and 4 experimental diets were provided: a control diet and three other diets enriched with different fiber sources (wheat bran, unwashed brewer spent grain and washed brewer spent grain). To study the effect of brewer spent grain, the control diet was used as the negative control and the wheat bran as the positive control.

The values of fecal apparent digestibility of dry matter, protein and mineral fraction with brewer spent grain were higher ($P < 0.05$) than those obtained with wheat bran. The consistency of faeces and intestinal morphology showed better results ($P < 0.05$) with the adding of brewer's grain, when compared to the control and the bran. We found unexpectedly low values for intestinal fermentations.

In conclusion, the fiber of brewer's spent grain has some beneficial effects, mainly when compared to wheat bran, but there were no clear indications of the existence of a prebiotic effect

Key-words: piglets, fibre, brewer's spent grain, digestibility, intestinal morphology

Resumo

Com o objectivo de estudar o efeito da utilização de dreches de cerveja na digestibilidade, consistência das fezes, fermentações intestinais e morfologia da parede intestinal, distribuíram-se 32 leitões, desmamados aos 28 dias de idade, em 4 blocos de 8 animais, fornecendo-lhes 4 regimes experimentais: um regime base e outros três enriquecidos com fibra cuja fonte diferia (sêmea de trigo, dreche de cerveja não lavado e dreche de cerveja lavado). Para estudar o efeito do dreche de cerveja, o regime base serviu de controlo negativo e o regime sêmea de controlo positivo.

Os valores da digestibilidade fecal aparente da matéria seca, proteína e fracção mineral com dreche de cerveja foram superiores ($P < 0,05$) aos obtidos com a sêmea de trigo. A consistência fecal e a morfologia intestinal apresentaram melhores resultados ($P < 0,05$) com a incorporação de dreche, em relação ao regime base e à sêmea. Os valores dos resultados para as fermentações intestinais revelaram-se baixos.

Em conclusão, a fibra do dreche de cerveja tem alguns efeitos benéficos principalmente em relação à sêmea de trigo, mas sem indicações claras da existência de um efeito prébiotico.

Palavras-chave: leitões, fibra, dreches de cerveja, digestibilidade, morfologia intestinal.

Extended abstract

One of the largest problems with early weaned pigs is their poor performance during the transition between a liquid diet, provided regularly by the sow, and a dry diet *ad libitum*. The moderate use of parietal sugars can prevent digestive disorders and contribute to an adaptation of digestive functions (Knudsen and Hansen, 1991). The brewers spent grains, apart from being a relatively inexpensive product, is rarely studied in pigs, with no information about its use by the piglets, where the interest lies in the potential effect of fiber and other oligosaccharides in intestinal health.

In order to study the effect of brewer's spent grain in digestibility, consistency of faeces, intestinal fermentations and morphology of the intestinal wall, 32 piglets, weaned at 28 days of age were distributed in 4 blocks of 8 animals and 4 experimental diets were provided: a control diet and three other diets enriched with different fiber sources (wheat bran, unwashed brewer spent grain and washed brewer spent grain). To study the effect of brewer spent grain, the control diet was used as the negative control and the wheat bran as the positive control.

The incorporation of brewer's spent grains only decreased significantly the apparent digestibility of dry matter in relation to the control. Compared to the bran, the diets with brewer's grains showed higher rates of digestibility for dry matter, crude protein and mineral fraction. In terms of faecal apparent digestibility, it can be concluded that the brewer's spent grain presents more positive values in relation to wheat bran. The diets with brewer's grains showed improvements in faecal consistency, compared to the bran and the diet control. Finally, the brewer's grains has also shown positive effects on parameters studied in the intestinal morphology, indicating a good adaptation to the diet and a good recovery of the changes suffered during the weaning.

In conclusion, the fiber of brewer's spent grain has some beneficial effects, mainly when compared to wheat bran, but there were no clear indications of the existence of a prebiotic effect

Índice geral

I – Introdução	1
II – Revisão bibliográfica	2
2.1 – Parede celular vegetal e fibra alimentar	2
2.1.1 – Celulose	4
2.1.2 – Hemiceluloses	4
2.1.3 - Pectinas.....	5
2.1.4 – Lenhina	5
2.1.5 – Glúcidos não estruturais	6
2.1.6- Composição da parede vegetal em função da origem botânica	6
2.2 – Função digestiva dos suínos	7
2.2.1 – Introdução à digestão.....	8
2.2.2 – Digestão dos hidratos de carbono	8
2.2.3 – Digestão dos prótidos	9
2.2.4 – Digestão dos lípidos	10
2.2.5 – Particularidades e adaptações digestivas do leitão.....	10
2.3 – A fibra e o processo digestivo dos suínos	11
2.3.1 – Influência da fibra nas secreções digestivas.....	12
2.3.2 – Influência da fibra na capacidade fermentativa e na produção de ácidos gordos voláteis	12
2.3.3 – Influência da fibra no trânsito digestivo.....	14
2.3.4 – Influência da fibra na digestibilidade fecal aparente	15
2.4 – Morfologia da parede do intestino delgado e do intestino grosso.....	16
2.4.1 – Sistema imunitário associado à parede intestinal.....	18
2.4.2 – Absorção de nutrientes na parede intestinal	19
2.5 – Efeito da fibra sobre a parede intestinal	20
2.5.1 – Modificação da morfologia intestinal	20
2.5.2 – Diferenciação e maturação das células da mucosa intestinal.....	20
2.5.3 – Efeito na absorção de nutrientes.....	21
2.6 – Efeito prébiotico associado à fibra e outros oligossacáridos	21
2.6.1 – Efeito na microflora intestinal.....	23
2.6.2 – Controlo da ocorrência de diarreias	24
2.7 – Os dreches de cerveja: caracterização e composição.....	24
2.7.1 – Utilização dos dreches pelos suínos.....	28
III – Materiais e métodos	30
3.1 - Animais	30
3.2 - Regimes alimentares.....	32

3.3 – Preparação das amostras das fezes e dos regimes experimentais	33
3.4 – Determinações analíticas	33
3.4.1 – Determinações analíticas gerais.....	33
3.4.2 – Determinação dos ácidos gordos volateis.....	34
3.4.3 – Análise da actividade enzimática microbiana.....	35
3.5 – Análise histológica do epitélio intestinal	35
3.6 – Parametros estudados	36
3.6.2 – Balanço azotado	36
3.6.3 – Digestibilidade fecal aparente.....	36
3.6.4 – Medição do pH dos conteúdos	37
3.6.5 – Consistência das fezes.....	37
3.7 – Análise estatística.....	37
IV – Resultados.....	38
4.1 – Performances zootécnicas dos leitões	38
4.2 – Digestibilidade fecal aparente e consistência das fezes	38
4.3 – Actividade fermentativa no ceco e cólon.....	40
4.3.1 – Actividade total ou específica das enzimas digestivas microbianas	40
4.4 – Concentração de ácidos gordos volateis	41
4.5 – Conteúdos do tubo digestivo: pH e matéria seca	46
4.6 – Desenvolvimento do tubo digestivo.....	46
4.7 – Morfologia da mucosa intestinal	46
4.8 – Balanço azotado	49
V – Discussão dos resultados.....	51
5.1 – Digestibilidade fecal aparente.....	51
5.2 – Balanço azotado	53
5.3 – Actividade fermentativa e produção de ácidos gordos volateis	54
5.4 – Morfologia intestinal.....	56
VI – Conclusão.....	58
Referências bibliográficas	59

Índice de quadros

Quadro 1. Principais hidratos de carbono na alimentação humana	3
Quadro 2. Composição química de algumas matérias-primas de origem vegetal em percentagem na matéria original.....	7
Quadro 3. Composição média do endosperma do grão de cevada.....	25
Quadro 4. Composição química dos dreches de cerveja	27
Quadro 5. Composição de polissacáridos não amiláceos e seus monossacáridos de dreches de cerveja em duas variedades de cevada	28
Quadro 6. Composição (g/kg) dos regimes experimentais	32
Quadro 6.1. Composição do complexo mineral e vitamínico por kg de alimento.....	32
Quadro 7. Composição química dos regimes experimentais	32
Quadro 8. Efeito da fonte de fibra e da lavagem do dreche no crescimento dos leitões ao longo de todo o período experimental.....	39
Quadro 9. Efeito da fonte de fibra e da lavagem do dreche na consistência das fezes e na digestibilidade fecal aparente	39
Quadro 10. Efeito da fonte de fibra e da lavagem do dreche na actividade total das enzimas digestivas microbianas	40
Quadro 11. Efeito da fonte de fibra e da lavagem do dreche na actividade específica das enzimas digestivas microbianas	41
Quadro 12. Efeito da fonte de fibra no regime dos leitões e da lavagem do dreche na concentração e proporção molar de ácidos gordos voláteis (AGV) no conteúdo do intestino delgado	43
Quadro 13. Efeito da fonte de fibra no regime dos leitões e da lavagem do dreche na concentração e proporção molar de ácidos gordos voláteis (AGV) no conteúdo do ceco	44
Quadro 14. Efeito da fonte de fibra no regime dos leitões e da lavagem do dreche na concentração e proporção molar de ácidos gordos voláteis (AGV) no conteúdo do cólon	45
Quadro 15. Efeito da fonte de fibra do regime e da lavagem do dreche no pH e na matéria seca dos conteúdos do tubo digestivo dos leitões	47
Quadro 16. Efeito da fonte de fibra no regime e da lavagem do dreche no desenvolvimento do tubo digestivo (g/kg peso vivo) dos leitões.....	47
Quadro 17. Efeito da fonte de fibra no regime alimentar e da lavagem do dreche na morfologia da mucosa intestinal (μm) dos leitões	48
Quadro 18. Efeito da fonte de fibra no regime e da lavagem do dreche no balanço azotado dos leitões	50

Quadro 19. Efeito da fonte de fibra no regime e da lavagem do dreche na quantidade diária ingerida e degradada de constituintes parietais	53
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Índice de figuras

Figura 1. Representação esquemática da estrutura da parede celular vegetal.....	2
Figura 2. Corte histológico (objectiva 10x) onde se distingue as camadas muscular, sub-mucosa e mucosa	17
Figura 3. Corte histológico (objectiva 10x) da mucosa intestinal.....	17
Figura 4. Representação esquemática da obtenção de dreches de cerveja	26
Figura 5. Esquema representativo do ensaio realizado	30

Lista de símbolos e abreviaturas

ADF: Fibra ácido-detergente
ADL: Lenhina ácido-detergente
AGV : Ácidos gordos voláteis
C2: Acetato
C3: Propionato
C4: Butirato
CL: Celulose
CRN: Coeficiente de retenção de azoto
CUD: Coeficiente de utilização digestiva
CUPN: Coeficiente prático de utilização de azoto
Cz: Cinza
DL: Regime dreche lavado
DNL: Regime dreche não lavado
DNSA: Ácido dinitro-salicílico
DPR: Desvio padrão residual
GMD: Ganho médio diário
HC: Hemicelulose
I.S.A: Instituto Superior de Agronomia
IC: Índice de conversão alimentar
ID: Intestino delgado
IgA: Imuno globulina A
INRA: Institut National de la Recherche Agronomique
MS: Matéria seca
NDF : Fibra neutro-detergente
NRC: National Research Council
PB: Proteína bruta
PF: Peso final
PI: Peso inicial
PNA: Polissacáridos não amiláceos
RB: Regime base
S: Regime semente de trigo
SAS: Statistical analysis system
STD: Desvio padrão

I – Introdução

Um dos maiores problemas com os leitões desmamados precocemente é o seu mau desempenho durante o período de transição entre uma dieta líquida, fornecida regularmente pela porca, e uma dieta seca *ad libitum*. Nesta fase particularmente difícil o animal sofre um grande stress social e nutricional, ocorre uma mudança no ambiente físico, a protecção térmica diminui e surge o contacto com novos agentes patogénicos (Varley e Miller, 2002). Como consequência, verifica-se uma menor actividade enzimática e uma diminuição da altura das vilosidades e um aumento da profundidade das criptas, prejudicando a digestibilidade e a capacidade de absorção de nutrientes (Pulske, 2001). De acordo com o mesmo autor, ocorre também uma diminuição da quantidade de alimento ingerida, um aumento de distúrbios intestinais e da ocorrência de doenças que podem levar à morbilidade ou mortalidade. Tais acontecimentos limitam a eficiência da produção suína e tornaram-se mais visíveis com a proibição imposta, no início da presente década, pela União Europeia à utilização de antibióticos em doses profiláticas, para prevenir distúrbios gastrointestinais e promover o crescimento e a eficiência alimentar (Mroz, 2003).

Os ingredientes escolhidos para os regimes de desmame, têm de ser bem tolerados pelo leitão e estimular o desenvolvimento da função digestiva (Freire, 1998). A utilização moderada de glúcidos parietais pode prevenir distúrbios digestivos e contribuir para uma adaptação das funções digestivas (Knudsen e Hansen, 1991). Apesar do seu impacto negativo sobre as performances, devido à baixa digestibilidade da matéria seca, proteína, energia e minerais, tem sido dada muita atenção nos últimos anos à utilização de fibras na alimentação dos suínos, dadas as suas múltiplas funcionalidades (Bindelle *et al.*, 2008). A fibra alimentar vai influenciar as secreções digestivas, a capacidade fermentativa e os ácidos gordos voláteis produzidos, a duração do trânsito digestivo, a morfologia intestinal, a diferenciação e maturação das células epiteliais e a absorção de nutrientes. Contudo, as acções da fibra dependem do seu grau de fermentação pelas bactérias do cólon (Edwards e Parrett, 2003), que está relacionado com as suas características físico-químicas: capacidade de retenção de água e troca catiónica, viscosidade, características de absorção e degradabilidade.

O trabalho que se apresenta teve como principais objectivos estudar o efeito da natureza da fibra na digestibilidade fecal aparente, na consistência das fezes, nas fermentações intestinais e na morfologia da parede da mucosa intestinal em leitões desmamados precocemente. Utilizou-se para tal a comparação entre duas fontes de fibra: a sêmea de trigo e os dreches de cerveja (sujeito ou não a lavagem). O dreche de cerveja para além de ser um produto relativamente barato é pouco estudado em suínos, não havendo informação sobre a sua utilização pelo leitão, onde o interesse reside no potencial efeito da fibra e outros oligossacáridos na saúde intestinal.

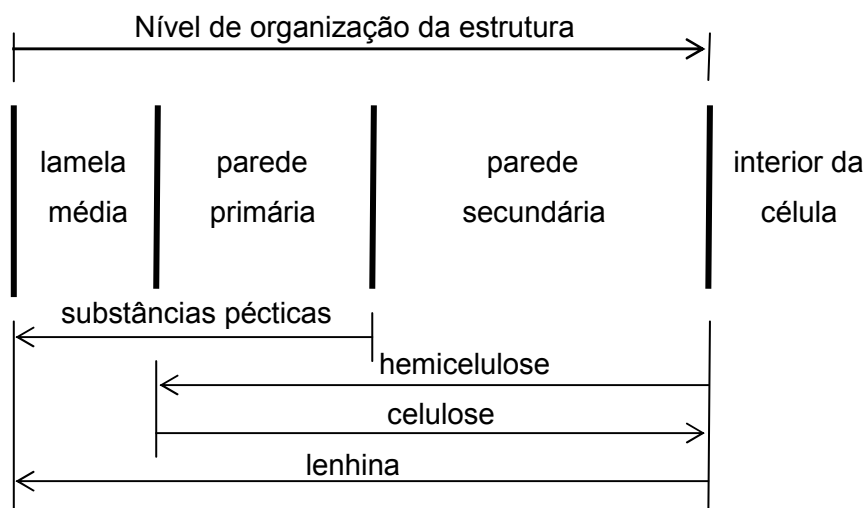
II – Revisão bibliográfica

2.1- Parede celular vegetal e fibra alimentar

A parede celular vegetal é uma estrutura semi-rígida com múltiplas funcionalidades biológicas, que envolve a membrana citoplasmática das células vegetais. É principalmente constituída por polissacáridos (celulose, hemiceluloses, pectinas), proteínas estruturais, lenhina, ceras e gomas (Talmadge et al., 1973). Os monossacáridos que formam as moléculas mais complexas são a arabinose, xilose, glucose, galactose, manose, ramnose, fucose, ácidos urónico, glucorónico e galacturónico (Bach Knudsen *et al.*, 2008).

Na estrutura da parede celular, segundo Taiz e Zeiger (1998), é possível distinguir-se três zonas: a **lamela média**, que é uma fina camada rica em pectinas que liga duas células vegetais contíguas; a **parede primária**, que surge como um arranjo ordenado de microfibrilhas de celulose embebidas num gel amorfo de hemiceluloses, pectinas e algumas proteínas estruturais; e a **parede secundária**, que é sintetizada em alguns tipos de células após o seu alongamento e tem uma composição mais complexa do que a parede primária, incluindo lenhina, o que confere maior rigidez e resistência (**Figura 1**).

Figura 1. Representação esquemática da estrutura da parede celular vegetal (Northcote, 1958).



Com o amadurecimento das plantas as proporções de celulose e lenhina vão aumentar, diminuindo conseqüentemente a proporção dos outros componentes, o que influencia as propriedades físicas da parede celular vegetal (Van Soest e MacQueen, 1973). Assim, a sua taxa e extensão de degradação pelos animais é determinada pela fase de desenvolvimento da planta, pelo tipo de célula e pela espécie vegetal (Ha *et al.*, 2000).

Para Gidenne *et al.* (1998) os principais tipos de fibra classificam-se de acordo com as suas propriedades e estrutura química. Esta classificação consiste em quatro polímeros insolúveis em água (celulose, hemiceluloses, substâncias pécticas e lenhina), com uma grande resistência física – que contribui para a forma e estrutura da planta –, e à hidrólise química e enzimática; e outra classe onde estão incluídos polissacáridos não amiláceos e oligossacáridos hidrossolúveis, com graus de polimerização diferentes, como as hemiceluloses e as substâncias pécticas solúveis. Os principais polissacáridos da parede celular vegetal são a celulose, os arabinoxilanos, β -glucanos, xiloglucanos, ramanogalacturanos e os arabinogalactanos (Theander *et al.*, 1989).

Os constituintes da parede celular vegetal, acima citados, formam o que se designa de fibras alimentares. Apesar de não ser totalmente consensual, este conceito foi definido recentemente pela American Association of Cereal Chemists como “a parte comestível de plantas ou hidratos de carbono análogos, que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado humano com completa ou parcial fermentação no intestino grosso”. A fibra alimentar inclui então polissacáridos, oligossacáridos (**Quadro 1**), lenhina e substâncias vegetais associadas, que promovem efeitos fisiológicos benéficos. O amido resistente é também considerado como fibra alimentar, numa definição normalmente utilizada para todas as espécies de animais não ruminantes (Bindelle *et al.*, 2008).

Quadro 1. Principais hidratos de carbono na alimentação humana (adaptado de Candela *et al.*, 2002).

Classe (G.P ¹)	Subgrupo	Componentes
Açúcares (1-2)	Monossacáridos	Glucose, frutose, galactose, manose, etc.
	Dissacáridos	Sacarose, Lactose, etc.
	Polióis	Sorbitol, xilitol, etc.
Oligossacáridos (3-9)	Malto-oligossacáridos	Maltodextrinas.
	Outros oligossacáridos	Fructo-oligossacáridos, etc.
Polissacáridos (+10)	Amido	Amilose, amilopectina.
	P.N.A ²	Celulose, hemiceluloses, pectinas, hidrocoloides.

¹ Grau de polimerização.

² Polissacáridos não amiláceos

2.1.1- Celulose

A parede vegetal celular é a fonte primária de celulose, que é o bio-polímero mais abundante e útil no planeta (Cosgrove, 2005). A estrutura primária da celulose baseia-se em ligações β – (1,4) não ramificadas de D-glucose. Cada dissacárido de D-glucose forma uma molécula de celobiose (Taiz e Zeiger, 1998). A sua estrutura tridimensional (planar) é mais complexa, dado que toda a D-glucose é torcida a 180° em relação à próxima molécula e as cadeias de celulose ligam-se entre si, por pontes de hidrogénio (McDougall *et al.*, 1996). Formam assim o “esqueleto” da parede celular, as microfibrilhas de celulose, que são estruturas cristalinas insolúveis, mecanicamente fortes e resistentes aos ataques enzimáticos (Ha *et al.*, 2000; Cosgrove, 2005). Julga-se existir um arranjo diferente da celulose cristalina entre as paredes celulares primária e secundária, já que nesta última está intimamente ligada à lenhina (Ha *et al.*, 2000), diminuindo assim a sua digestibilidade, enquanto que na parede primária a celulose é mais amorfa (McDougall *et al.*, 1996).

Segundo Southgate e Englyst (1985), apesar de todas as formas de celulose serem aparentemente iguais existem aspectos das suas propriedades físicas, como o comprimento da cadeia ou a presença de regiões amorfas na estrutura cristalina, que a podem tornar mais susceptível aos ataques ácidos e enzimáticos.

2.1.2- Hemiceluloses

As hemiceluloses ligam-se facilmente à celulose, por pontes de hidrogénio, formando com ela uma rede forte (Cosgrove, 2005), podendo igualmente ligar-se a outros componentes da matriz, como a lenhina ou as pectinas (Pais e Barroso, 2005). De acordo com Bach Knudsen (2001), a sua constituição é complexa pois é formada por oses neutras (xilose, arabinose, manose, glucose e fucose) e ácidas (ácido galacturónico e 4-O-metil-glucurónico) com um grau de polimerização e cadeias laterais variáveis. Os açúcares constituintes são ligados sobretudo por ligações glucosídicas β – (1,4) e também por β – (1,3). De acordo com Aspinall (1980), as hemiceluloses dividem-se geralmente em xiloglucanos, xilanas, galactoglucomanas e β -glucanos, consoante a sua composição química.

Os **xiloglucanos** apresentam um esqueleto celulósico, de onde saem ramificações de cadeias curtas de xilose, galactose, fucose e arabinose. Segundo Baba *et al.* (1994) os xiloglucanos podem ficar aprisionados durante a formação das microfibrilhas de celulose; e os que ficam livres podem aderir a outras superfícies de celulose, ou a outros polímeros, ligando assim as microfibrilhas a estruturas vizinhas (Cosgrove, 2005). Daí que a digestão da região não cristalina de uma molécula de celulose resulte na libertação de alguns xiloglucanos aprisionados nas microfibrilhas (Park *et al.*, 2004).

A **xilana** é a fracção mais abundante das hemiceluloses e é constituída por uma cadeia linear de D-xilose à qual podem estar associadas moléculas de L-arabinose, ácido D-glucurónico ou o seu éster metílico, D-galactose e possivelmente D-glucose (Bailey, 1973). As **arabinoxilanas** têm uma base de β – (1,4)-D-xilana com ramificações de arabinose e também de ácido galacturónico e esteres de ácido ferulico.

As **galactoglucomananos** são constituídas por cadeias lineares de D-glucose e D-manose, numa proporção aproximada de 1:3 (Reis, 2000), às quais estão associadas cadeias laterais de galactose (Cunha, 1988). Já os **β -glucanos**, existentes principalmente na aveia e cevada, são fibras solúveis em água formando soluções muito viscosas mesmo em baixas concentrações, com ligações mistas β – (1,3)(1,4)-D-glucanos de elevado peso molecular (Wood, 1986).

2.1.3- Pectinas

As pectinas são talvez os polissacáridos mais complexos que se conhecem. São relativamente solúveis em água e facilmente fermentescíveis. Têm um papel fundamental na porosidade da parede e na sua espessura, encontrando-se essencialmente na lamela média (Taiz e Zeiger, 1998). De acordo com Selvedran (1984), são polímeros baseados em ligações α – (1,4)-ácido-D-galacturónico, podendo também conter L-arabinose, D-galactose, ramnose, fucose, glucose e xilose. O facto de possuírem resíduos de ácido galacturónico ionizados, leva a que as soluções de pectina formem géis semirígidos na presença de Ca^{2+} , sendo as ligações cruzadas com este ião importantes na manutenção da estrutura da parede (Pais e Barroso, 2005).

São várias as substâncias pécticas: Os **ramanogalacturanos** são moléculas alternadas de ácido galacturónico e ramnose, com possíveis ramificações de outras substâncias pécticas (Vincken *et al.*, 2003); os **homogalacturonanos** são formados por uma rede linear de moléculas de ácido galacturónico e aos **xilogalacturonanos** são adicionadas redes de xilose, sendo os seus grupos carboxilo esterificados por metil, o que bloqueia os grupos ácidos e impede a formação de géis (Cosgove, 2005).

2.1.4- Lenhina

É um polímero fenilpropanoico formado pela polimerização de três álcoois: p-cumarílico, coniferílico e sinapílico (Taiz e Zieger, 1998). Pode ser descrita como uma rede tridimensional ramificada e complexa, com um peso molecular elevado (Gidenne *et al.*, 1998). Forma uma barreira física que impede a aderência das bactérias às paredes celulares, dificultando a degradação bioquímica dos polissacáridos das fibras alimentares aos quais está intrinsecamente ligada, e protegendo a parede vegetal de agressões físicas

(De Vries, 2003). Como tal, a quantidade de lenhina presente afecta a bio-disponibilidade da celulose e hemiceluloses, diminuindo o valor nutritivo do material vegetal (Pond *et al.*, 2005).

2.1.5- Glúcidos não estruturais

O **amido** é o polissacárido de reserva mais abundante nas plantas, sendo composto por α – glucanos na forma de amilose e amilopectina. A amilose é uma molécula com ligações lineares α – (1,4) e a amilopectina é formada por uma cadeia longa com ligações α – (1,6). Potencialmente digerido pelas enzimas no tracto gastrointestinal, é absorvido na forma de glicose no intestino delgado. Em 1982 Englyst *et al.* constataram que uma parte do amido foi altamente resistente à acção da α – amilase pancreática *in vitro*, designando-se essa fracção a partir de então de **amido resistente**. Os mesmos autores consideraram que o amido pode ser resistente por (1) estar fisicamente inacessível na matriz, (2) os grânulos de amido serem resistentes devido à sua estrutura cristalina, (3) o amido ser retardado ou (4) o amido ser quimicamente modificado. Essa porção, resistente à digestão no intestino delgado, é fermentada no cólon pela microflora bacteriana e, apesar da eficiência energética ser menor do que se o amido fosse digerido e absorvido no intestino delgado (Englyst *et al.*, 1996), os elevados níveis de butirato produzidos podem ter efeitos benéficos para a saúde intestinal (Cummings, 1995), dependendo contudo da quantidade de amido resistente que chega ao intestino grosso.

A **inulina** e a **oligofrutose**, respectivamente, um polímero e um oligómero de frutose, são substâncias de reserva em algumas plantas digeridas apenas por enzimas microbianas. As **gomas** (e.g. goma arábica) são um complexo grupo de polissacáridos que contêm ácido glucorónico e galacturónico, xilose, galactose e manose (Pak, 1997). Segundo o mesmo autor, as **mucilagens** (e.g. goma guar - galactomanano de alto peso molecular) são também de reserva energética, encontrando-se no endosperma ou misturadas com polissacáridos digestíveis.

2.1.6- Composição da parede vegetal em função da origem botânica

Vários autores têm encontrado diferenças na composição dos constituintes da parede celular vegetal segundo a sua origem botânica, nomeadamente entre plantas gramíneas e leguminosas. Contudo, a composição da parede celular não varia apenas com a espécie vegetal em questão mas também com a maturidade da mesma e com o tipo de tecidos. De um modo geral nos cereais encontram-se principalmente celulose, arabinoxilanos e β -glucanos e nas leguminosas grandes quantidades de substâncias pécicas (Bach Knudsen *et al.*, 2008). No **quadro 2** está indicada a composição química de algumas matérias-primas de origem vegetal utilizadas na alimentação animal.

Nos **cereais** há uma percentagem variável de hemiceluloses que são solúveis, predominando os glucanos mistos ou β -glucanos, existindo também xilana mas em menor proporção (McDougall *et al.*, 1996). Os β -glucanos encontram-se especialmente no endosperma dos grãos (Jeracy e Lewis, 1989). As **sêmeas de trigo** são ricas em arabinoxilanos e celulose, tendo no entanto baixas proporções dos constituintes dos ácidos urónicos (Freire *et al.*, 2000), enquanto que na **cevada** e **aveia** os β -glucanos são predominantes (Theander *et al.*, 1989). As galactoglucomananas são próprias da parede celular do endosperma e da camada aleurona do grão de trigo e cevada.

Em relação às **leguminosas** as glucomananas estão presentes em percentagens relativamente elevadas (Morrison, 1979), podendo encontrar-se galactoglucomananas como polióside de reserva no endosperma dos grãos das leguminosas. No que respeita a substâncias pécticas, as leguminosas têm um teor relativamente elevado (5-10%) em relação às gramíneas ($\pm 2\%$).

Quadro 2. Composição química de algumas matérias-primas de origem vegetal em percentagem na matéria original (adaptado de INRA, 2004).

	MS ¹	PB	GB	Cel. Bruta	NDF	ADF	ADL	Paredes vegetais	Amido	Açúcares totais
Cevada	86,7	10,1	1,8	4,6	18,7	5,5	1,0	14,9	52,5	2,1
Trigo mole	86,8	10,5	1,5	2,2	12,4	3,1	1,0	9,7	60,5	2,4
Sêmea trigo	86,6	14,6	4,4	10,1	43,2	13	3,7	41,8	19,9	6,6
Milho	86,4	8,1	3,7	2,2	10,4	2,6	0,5	9,1	64,1	1,6
Aveia	88,1	9,8	4,8	12,2	32,8	14,9	2,5	32,7	36,2	1,1
Ervilha	86,4	20,7	1,0	5,2	12,0	6,0	0,3	12,8	44,6	3,9
Soja	88,1	34,8	17,9	5,2	11,0	6,4	1,0	20,0	0,0	7,7
Bagaço soja 46	87,6	43,3	1,7	6,1	12,4	7,4	0,4	19,2	0,0	8,5
Polpa beterraba	89,1	8,1	0,9	17,3	40,5	20,6	1,9	58,6	0,0	6,6

¹ MS: matéria seca; PB: proteína bruta; GB: gordura bruta; Cel. Bruta: celulose bruta; NDF: fibra neutro-detergente; ADF: fibra ácido-detergente; ADL: lenhina ácido-detergente.

2.2- Função digestiva dos suínos

O porco, como animal monogástrico, tem o seu aparelho digestivo constituído pela boca, esófago, estômago, intestino delgado e intestino grosso, aos quais estão associadas várias glândulas anexas. A sua função digestiva (ingestão, digestão e absorção dos nutrientes) é assegurada pela acção conjunta das enzimas glucolíticas, proteolíticas e lipolíticas dos sucos gástrico, pancreático e intestinal, sendo a digestão completada pela acção fermentativa da flora microbiana existente no intestino grosso (Kidder e Manners, 1978).

2.2.1- Introdução à digestão

A digestão inicia-se com a apreensão dos alimentos, efectuada pela acção conjunta dos dentes, lábios, língua e movimentos da cabeça, que varia de acordo com a sua natureza. A saliva é segregada principalmente pelas glândulas parótidas, mandibulares e sublinguais, tem um pH de 7,4 e é constituída sobretudo por água, muco e α -amilase, tendo como funções humedecer o alimento, lubrificar o esófago e iniciar a digestão do amido (Kidder e Manners, 1978). Após uma curta permanência na boca, os alimentos passam ao esófago e deste até ao estômago, por meio de contracções musculares.

O estômago diferencia-se nas regiões esofágica, cárdica, fúndica e pilórica, existindo nestas últimas três, células que em conjunto segregam o suco gástrico, que ao ser formado por ácido clorídrico, enzimas proteolíticas e lipase gástrica tem um pH que varia entre 2 e 3,5 (Kidder e Manners, 1978). A actividade do estômago tem início com a ingestão, continuando por três a quatro horas, ocorrendo depois um período mais curto de repouso, antes de retomar a actividade vigorosa (Freire *et al.*, 2000).

No intestino delgado, constituído pelo duodeno, jejuno e íleo, o quimo progride ao longo do tubo e é misturado com sucos digestivos, libertando-se nutrientes simples que entram em contacto com a mucosa intestinal por meio das vilosidades e vão ser absorvidos por transporte activo, passivo ou difusão (McDonald *et al.*, 1995).

O intestino grosso dos suínos, constituído por um ceco curto e um cólon longo comparativamente a outros não-ruminantes (Kidder e Manners, 1978), vai receber o material não digerido no intestino delgado pelas enzimas digestivas e expô-lo demoradamente a uma grande população microbiana para fermentação (Van der Klis e Jansman, 2002). O que não é absorvido pela mucosa (resíduos de alimento, células epiteliais, sais inorgânicos, bactérias e produtos resultantes da sua decomposição) é excretado (McDonald *et al.*, 1995).

2.2.2- Digestão dos hidratos de carbono

A α -amilase é a primeira enzima a participar na digestão dos hidratos de carbono, actuando na boca sobre o amido a um pH óptimo de 6,7 resultando em dextrinas, maltose e maltotriose (Yen, 2001). A sua acção prolonga-se até entrar em contacto com o suco gástrico, cujo pH muito ácido faz cessar a sua actividade (Longland, 1991). De referir que na fase esofágica do estômago, alguns hidratos de carbono podem ser alvo de uma reduzida actividade fermentativa por parte de bactérias dos géneros *Lactobacillus* e *Streptococcus*, resultando ácido láctico (Van der Klis e Jansman, 2002). Contudo, quando o quimo atinge o duodeno e é misturado com as secreções digestivas (bólis, suco pancreático e suco intestinal) de cariz alcalino, o pH sobe e a hidrólise do amido prossegue sendo os produtos resultantes e os dissacáridos ingeridos expostos a carbohidrases, que os dividem em monossacáridos (glucose, galactose, frutose) (Freire *et al.*, 2000).

De acordo com Sajilata *et al.* (2006), apesar do amido ser hidrolisado pela α -amilase salivar e pancreática, nem sempre essa hidrólise é completa e o “amido resistente” consegue chegar ao intestino grosso. Vários estudos mostram que a digestibilidade do amido é muito menor nas duas semanas que se seguem ao desmame (Jensen, 1998), levando a acumulações na parte distal do intestino delgado que mascaram o efeito da fibra nesse período (Bach Knudsen *et al.*, 2008). Sabe-se também que não há uma relação directa entre a viscosidade do conteúdo luminal e a digestibilidade do amido (Bach Knudsen *et al.*, 2008). Na porção terminal do trato gastrointestinal, os polissacáridos não hidrolisados vão ser o principal substrato energético para a microflora que, entre outras enzimas, irá produzir celulasas, hemicelulasas e pectinases (Varel *et al.*, 1997). O ceco e o cólon proximal, ao contribuírem com 92% da digestão distal dos hidratos de carbono, são os locais por excelência da fermentação levada a cabo pela complexa flora microbiana anaeróbia (Bach Knudsen *et al.*, 1993).

No grau de fermentação estão directamente implicados a fonte de fibra (devido à sua solubilidade) e a presença de azoto, minerais e vitaminas, que são imprescindíveis para a nutrição microbiana (Yen, 2001), sendo certo que a fermentação será favorecida com um maior tempo de permanência no intestino grosso (Freire *et al.*, 2003).

2.2.3- Digestão dos prótidos

Segundo o estudo de Wilfart *et al.* (2007), 11% da proteína bruta é absorvida antes de chegar ao duodeno e 62% da proteína ingerida é digerida no intestino delgado, sendo que apenas 12% o é no intestino grosso. No estômago a pepsina, resultante da activação do pepsinogénio da secreção gástrica (Kidder e Manners, 1978), actua sobre as ligações peptídicas dos aminoácidos aromáticos (e.g. tripsina e triptofano), bem como nas ligações dos ácidos dicarboxílico, glutâmico e aspártico (Yen, 2001). Os principais produtos desta digestão são polipéptidos e alguns aminoácidos (McDonald *et al.*, 1995).

No intestino delgado a digestão proteica é mais intensa, a tripsina para além de actuar nos grupos carboxilo da lisina e da arginina, activa outras proenzimas pancreáticas, ou seja, o quimotripsinogénio em quimotripsina e a procarboxipeptidase em carboxipeptidase (Yen, 2001). A quimotripsina tem uma intervenção específica nas ligações peptídicas formadas pelos grupos carboxilo dos aminoácidos aromáticos e a carboxipeptidase tem como função libertar o aminoácido terminal da cadeia peptídica, que contem um grupo livre α -carboxilo (McDonald *et al.*, 1995). Por seu turno, as aminopeptidasas vão hidrolisar os péptidos na superfície da mucosa, sendo os aminoácidos resultantes (e alguns péptidos de baixo peso molecular hidrolisados intracelularmente) activamente absorvidos (Freire *et al.*, 2000). Muitas das bactérias que se encontram no intestino grosso, particularmente no ceco, são proteolíticas, como tal hidrolisam as proteínas

dando origem a ácidos gordos, aminoácidos, indóis, fenois e escatois (McDonald *et al.*, 1995).

2.2.4- Digestão dos lípidos

Os triglicéridos são os constituintes predominantes da gordura nas dietas, existindo também fosfolípidos, esteróis e ésteres (Longland, 1991). A lipase gástrica tem um papel fundamental na hidrólise dos triglicéridos, já que hidrolisa 25 a 50% dos lípidos no estômago em diglicéridos, monoglicéridos e ácidos gordos livres (Newport e Howarth, 1985). No duodeno, a colipase penetra na camada de sais biliares e dá-se a activação da lipase pancreática, que actua sobre os triglicéridos libertando dois ácidos gordos e um monoglicerol que vão formar micelas com os sais biliares, sendo absorvidos pela mucosa intestinal (Doreau e Chilliard, 1997). A fosfolipase hidrolisa os fosfolípidos e os esteróis, e a esterase pancreática o colesterol, sendo que os produtos resultantes (ácidos gordos não esterificados, lisofosfolípidos e algum colesterol) também fazem parte das micelas (Longland, 1991). Os ácidos gordos de cadeia curta passam directamente à circulação portal, sem necessidade de formarem micelas (Yen, 2001). De acordo com o mesmo autor, os triglicéridos são re-sintetizados depois de absorvidos, na forma de quilomicrons que passam dos canais quilíferos até ao canal torácico, onde são incorporados na circulação geral. De acordo com Wiseman (1984), a digestibilidade dos lípidos nos suínos chega a rondar os 80%, aumentando com a idade.

2.2.5- Particularidades e adaptações digestivas do leitão

Os leitões recém-nascidos têm um sistema digestivo adaptado ao leite materno e se a oferta de leite é abundante não é fácil interessar o leitão pelo alimento sólido (Manners *et al.*, 1976). Nos primeiros dias de vida o aparelho digestivo apresenta um fraco desenvolvimento físico dos compartimentos e da actividade enzimática endógena (Freire, 1998). Segundo o mesmo autor, o suco gástrico, devido à presença de quimosina e de um pH ácido proveniente da existência de ácido láctico microbiano, está adaptado à digestão da proteína do leite desde os primeiros dias de vida. No intestino delgado, durante o aleitamento, a lactase tem uma intensa actividade e o intestino grosso ainda não tem a sua capacidade fermentativa muito desenvolvida, não podendo por isso receber grandes quantidades de produtos proteicos não digeridos nem de polissacáridos não amiláceos.

O momento do desmame é um período particularmente difícil para os jovens leitões, especialmente quando praticado às 4 semanas. A separação da porca, a mudança de instalações e de alimentação provocam stress no animal. A nível nutritivo, o amido torna-se a principal fonte energética e a proteína do leite é substituída por proteínas vegetais, o que implica uma adaptação morfológica, enzimática e mesmo metabólica (Freire, 1998). Tais

implicações reduzem a digestibilidade e a capacidade de absorção (Pluske *et al.*, 2001). Ao desmame, para além de uma redução da altura das vilosidades e de um aumento da profundidade das criptas nota-se uma acentuada quebra na ingestão de alimento, o que origina reduções de peso, ocorrência de diarreias e maior susceptibilidade a doenças (Varley e Miller, 2002).

No estômago a síntese de ácido clorídrico, estimulada pela presença de ácidos orgânicos, dá-se a partir das quatro semanas de vida. A pepsina aumenta entre as duas e as cinco semanas, permanecendo depois estável (Kidder e Manners, 1978). A α -amilase aumenta a sua actividade com o teor de amido do regime, ou seja, aquando do desmame (Leibholz, 1985). Já as enzimas proteolíticas do suco pancreático, a lipase pancreática, maltase e sacarase intestinais sofrem um aumento na sua actividade a partir das três semanas com a supressão do leite (Pierzynowski *et al.*, 1993), acontecendo o contrário com a lactase. Com o aumento da idade também se transfere a maior proporção de ácidos orgânicos do estômago e intestino delgado, para o ceco e cólon (Manners *et al.*, 1976).

2.3- A fibra e o processo digestivo dos suínos

A importância relativa dos vários processos digestivos (hidrólise, absorção, fermentação, secreção e trânsito) depende não só do local de digestão, mas também do tipo e quantidade de alimento fornecido (Wilfart *et al.*, 2007). Fisiologicamente, os componentes da fibra alimentar resistem à degradação por enzimas endógenas, mas são degradáveis pela fermentação microbiana (Bach Knudsen, 2001).

A fibra alimentar desempenha fundamentalmente quatro acções distintas ao influenciar a **composição da flora microbiana**, o **crescimento das células epiteliais**, a **emissão de amónia** e a **saúde intestinal** dos animais. Estas acções dependem em grande medida, do grau de fermentação que a fibra sofre pelas bactérias do cólon (Edwards e Parrett, 2003). Com efeito, os ácidos gordos voláteis, produtos maioritários da fermentação, fornecem energia, influenciam a composição da flora microbiana e o crescimento das células epiteliais (Bindelle *et al.*, 2008). As propriedades físicas da fibra alimentar (capacidade de retenção de água, viscosidade e solubilidade), influenciam a emissão de amónia, dado que esta é a principal fonte azotada para os microrganismos e diminuem as fermentações proteolíticas, reduzindo a perda de azoto nas explorações (Nahm, 2003). Finalmente, contribui para a saúde intestinal dos animais, pois está associada à estimulação dos compartimentos e à redução de produtos potencialmente perigosos da fermentação proteica (Montagne *et al.*, 2003). A fibra alimentar, pelos factores atrás referidos, promove o bem-estar geral dos animais mantidos em condições intensivas (Meunier-Salaün, 2001).

Apesar do seu impacto negativo sobre as performances, devido à baixa digestibilidade da proteína e energia, tem sido dada muita atenção nos últimos anos à

utilização de fibras na alimentação dos suínos, dadas as suas múltiplas funcionalidades (Bindelle *et al.*, 2008).

2.3.1- Influência da fibra nas secreções digestivas

É conhecido que o teor e a natureza da fibra incorporada no regime podem influenciar as secreções digestivas dos suínos. Já em 1951 Kvasnitskii mostrou um aumento na secreção salivar com o aumento do teor de polissacáridos não amiláceos no regime. Comparando uma dieta rica em cevada (contendo vários tipos de fibra) com outra onde a celulose era a única fonte de fibra, vários autores encontraram níveis de secreções gástricas, pancreáticas e biliares maiores na primeira, o que demonstra a contribuição dos componentes não celulósicos (Sambrook, 1981). Pensa-se que certas propriedades da fibra, como a capacidade de retenção de água e a viscosidade, juntamente com o estímulo da secretina, possam estar envolvidas num aumento de secreções pancreáticas (Jensen *et al.*, 1978), o que pode significar um esforço metabólico acrescido para o animal (Wenk *et al.*, 2001). Em 1989, Corring relacionou o aumento das secreções pancreáticas com a ingestão de glúcidos parietais em porcos em crescimento. Tais resultados foram estendidos por Freire *et al.* (1998) a leitões, o que indica um efeito positivo da fibra na adaptação ao regime de desmame.

2.3.2- Influência da fibra na capacidade fermentativa e na produção de ácidos gordos voláteis

O processo fermentativo bacteriano dos hidratos de carbono decorre principalmente no ceco e cólon, podendo em certa medida ocorrer antes do final do íleo. Os principais substratos são polissacáridos não amiláceos e amido resistente, podendo contribuir também proteínas e compostos endógenos (Cumings, 1993). Sabe-se que as substâncias pécticas e os β – glucanos são digeridos no ceco e na zona proximal do cólon, os arabinosilanos são degradados na zona média do cólon enquanto que a celulose o é na zona mais distal (Bach Knudsen *et al.*, 2008). Para conhecer melhor a sua extensão e natureza é necessário quantificar a actividade enzimática nos conteúdos. Sabe-se então que diferenças na actividade das enzimas xilanase, pectinase e celulase estão, respectivamente, relacionadas com diferenças na actividade das bactérias xilanolíticas, pectinolíticas e celulolíticas (Freire *et al.*, 2003).

A diferença de fermentescibilidade entre dietas está fundamentalmente relacionada com os componentes da parede celular, que fazem com que a fibra fique mais ou menos disponível para fermentação. Sabe-se, por exemplo, que as substâncias pécticas formam soluções demasiado viscosas que podem ser prejudiciais, ocorrendo também efeitos pouco desejáveis com teores elevados de celulose cristalina ou lenhina (Anguita *et al.*, 2006).

Vários autores têm chegado recentemente a conclusões sobre a influência da fibra na capacidade fermentativa e nas suas consequências. De acordo com Bindelle *et al.* (2008), o crescimento bacteriano, suportado pela fermentação, induz uma transferência do azoto excretado da urina para as fezes. Pirmen *et al.* (2007) constataram aumentos significativos no ritmo de síntese proteica microbiana em todo o intestino, como consequência da fermentação da fibra.

Segundo Grieshop *et al.* (2001), dos produtos finais da fermentação fazem parte gases (CO_2 , H_2 e CH_4) e ácidos gordos voláteis (AGV), nomeadamente acetato, butirato, e propionato. De acordo com Macfarlane *et al.* (1995), formam-se outros metabolitos como o lactato, etanol e o succinato, que, com possível excepção do etanol, servem de dadores de electrões e ainda são convertidos em ácidos gordos voláteis.

Devido a mudanças na dieta a concentração de AGV aumenta após o desmame dos animais (Bach Knudsen *et al.*, 2008). Em 1966 MacDougall, verificou que a proporção de acetato/propionato/butirato era de 60:25:15. Mais tarde, Christensen *et al.* (1999) comprovaram que a produção desses três AGV representa 90-95% do total, mas segundo Englyst *et al.* (1987), as suas proporções variam de acordo com as características da fibra, com a actividade microbiana e com a duração do trânsito digestivo. Acredita-se que 95 a 99% dos AGV são absorvidos passivamente durante o trânsito digestivo no intestino grosso, de forma proporcional à sua concentração no lúmen, independentemente do pH (Engelhardt *et al.*, 1989). Como tal, a medição de AGV *in vivo* é difícil (Anguita *et al.*, 2006) e as determinações fecais não podem ser directamente relacionadas com o que acontece *in vivo* (Cummings e Macfarlane, 1991). A absorção de AGV através do cólon estimula a absorção do sódio presente no lúmen intestinal, promovendo desta forma um eficiente mecanismo de reabsorção de água, podendo deste ponto de vista ver-se os AGV como agentes antidiarreicos (Mosenthin *et al.*, 1999).

A energia que os AGV fornecem pode cobrir entre 5 e 25% da energia de conservação dispendida por animais em crescimento, apesar de ter um rendimento inferior comparativamente à glucose (Jensman e Van der Kliss, 2002). Jørgensen *et al.* (1997), citando vários autores, referiram que a eficiência energética era de 0,69-0,70 para o acetato e 0,71-0,75 para o propionato.

O **butirato** é directamente metabolizado pelos colonocitos, sendo um substrato energético obrigatório (Mosenthin *et al.*, 1999). O **propionato**, eficazmente absorvido no fígado, é um substrato útil para a gluconeogenese (Bindelle *et al.*, 2008). Já o **acetato**, apesar de absorvido em menor taxa pelo fígado, estimula a lipogenese e é uma fonte energética para a síntese de tecido muscular (Mosenthin *et al.*, 1999).

Muitos estudos demonstram que diferentes fontes de fibra e diferentes taxas de inclusão levam a diferentes níveis de AGV. Wang *et al.* (2004) concluíram que a inclusão de

fontes de fibra solúvel na dieta resulta num aumento, *in vitro*, da concentração de AGV comparativamente a fontes de fibra insolúveis. Segundo os mesmos autores, dietas enriquecidas com polpa de beterraba resultaram num aumento da proporção de acetato, dado que as xilanas e as substâncias pécticas vão promover a sua produção. Também a produção de lactato é favorecida pela fermentação de hidratos de carbono solúveis (Bergman, 1990). No que diz respeito a fontes de fibra insolúveis, Varel (1987) reportou concentrações totais de AGV mais baixas e relações acetato/propionato menores em porcos alimentados com níveis crescentes de luzerna, isto porque a concentração de propionato diminuiu com o aumento do teor de fibra. É sabido que a produção de acetato é estimulada pela fermentação da celulose (Bach Knudsen *et al.*, 2005). Em relação ao butirato, Stagonias e Pearce (1985) observaram maior produção deste nos conteúdos cecais de porcos alimentados com sêmea de trigo. Sabe-se também que um aumento do nível de butirato pode conseguir-se pela fermentação microbiana de arabinosilanos, mas pode também ser estimulado pelo amido resistente (Wang *et al.*, 2004; Bach Knudsen *et al.*, 2005).

2.3.3- Influência da fibra no trânsito digestivo

A natureza e o teor de fibra incorporada no regime influenciam o tempo que os alimentos estão no trato gastrointestinal, sendo necessário considerar os efeitos distintos de fibras solúveis e insolúveis.

Normalmente no estômago o trânsito digestivo é relativamente rápido. Contudo, a presença de fibras solúveis (pectinas, gomas, β – glucanos) provoca uma maior viscosidade do conteúdo (Rainbird e Sisons, 1985). Tal facto proporciona uma maior sensação de saciedade ao alongar a parede estomacal e reduz a taxa de esvaziamento do estômago, reflectindo-se também num retardamento do trânsito intestinal (Knudsen e Hansen, 1991; Wenk, 2001).

Por seu turno, as fibras insolúveis vão reduzir a duração total do trânsito digestivo (Wilfart, 2007), provavelmente pelo aumento de massa na zona cólon-rectal (Read, 1990), devido à sua maior capacidade de retenção de água (Knudsen e Hansen, 1991). Em consequência, o tempo de retenção no intestino delgado e especialmente no ceco e cólon, onde a média é de 2,6h e 18,1h, respectivamente (Bach Knudsen *et al.*, 2008) será menor. Como tal, diminui o tempo de exposição às enzimas de origem microbiana e pode reduzir o risco de fermentações pútridas e consequentes diarreias. (Freire, 1998).

2.3.4- Influência da fibra na digestibilidade fecal aparente

De acordo com Stagonias e Pearce (1985), os componentes fibrosos das sementes de leguminosas são, em regra, de mais fácil digestão do que os grãos dos cereais, sugerindo uma relação entre a fonte de fibra, com composições e propriedades químicas diferentes, e a digestibilidade aparente dos seus componentes. Em porcos em crescimento a digestibilidade da energia é negativamente afectada com teores elevados de ADF (Noblet *et al.*, 1993) e em leitões os polissacáridos não amiláceos prejudicam a digestibilidade fecal aparente da matéria seca e da energia (Freire *et al.*, 1998). Tal diminuição pode ser explicada pelo aumento da secreção endógena, pela diminuição da hidrólise e absorção de nutrientes, ou por ambos os fenómenos (Wilfart *et al.*, 2007).

As razões da menor digestibilidade estão relacionadas com o nível de fibra incorporado no regime e com as características físico-químicas inerentes ao tipo de fibra utilizado. Como tal, para além dos constituintes principais do NDF (celulose, hemiceluloses, lenhina) também outros componentes, como as pectinas, vão exercer a sua influência através da capacidade de retenção de água, que tem um papel importante na viscosidade do conteúdo intestinal. Na presença de fibras viscosas o movimento e a mistura mais difícil das enzimas digestivas com as secreções intestinais, a maior produção de muco (Mosenthin *et al.*, 1999), e a menor taxa de difusão dos componentes solubilizados no sentido da superfície da mucosa (Wenk, 2001), influenciam negativamente a digestibilidade fecal aparente. Segundo Stagonias e Pearce (1985), a digestibilidade fecal aparente da matéria seca, proteína e energia diminui linearmente com o aumento do nível de NDF ingerido.

Ainda de acordo com os mesmos autores, um aumento do nível de fibra na dieta tem maior consequência na digestibilidade dos componentes não fibrosos do que na digestibilidade dos componentes fibrosos, podendo esta depender do tempo e da extensão da acção das enzimas microbianas mas também, segundo Dierick *et al.* (1989), do nível alimentar, peso, idade e estado fisiológico do animal. Em muitos estudos é referido que um aumento do teor de fibras reduz o tempo de fermentação no ceco e cólon, com excepção de fibras com elevada fermentescibilidade. Freire *et al.* (2000), concluíram que as variações de digestibilidade entre as várias fontes de paredes celulares pode ser devida às diferentes quantidades de lenhina, visto que, aparentemente, a lenhina não é degradada pelos suínos e faz diminuir a **digestibilidade fecal aparente dos polissacáridos**. De acordo com os mesmos autores, a hemicelulose é cerca de 30 a 60% mais digestível do que a celulose, variando este valor com a origem botânica. Pode-se então dizer que a digestibilidade fecal aparente da fibra não depende só dos constituintes do NDF, em regra pouco fermentescíveis, mas também dos outros componentes com fermentescibilidades mais elevadas (Stagonias e Pearce., 1985), podendo mesmo o amido resistente influenciar a digestibilidade da fibra no período pós-desmame (Bach Knudsen *et al.*, 2008).

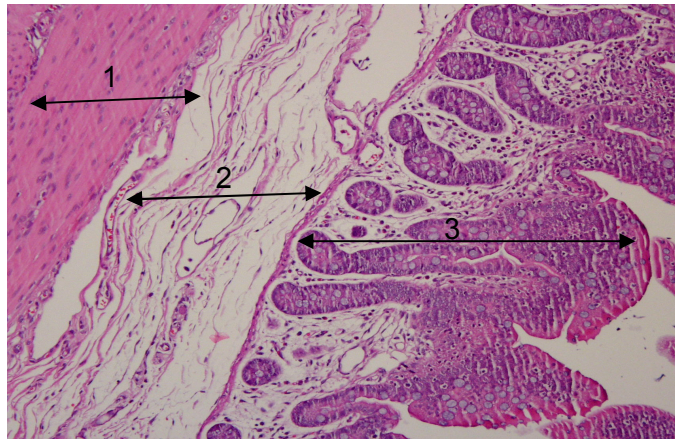
Sabe-se que a **digestibilidade fecal aparente da proteína bruta** diminui com o aumento do teor de fibra na dieta (Wilfart *et al.*, 2007). O crescimento microbiano estimulado pela fermentação intestinal da fibra é responsável por aumentar a excreção fecal de azoto e, consequentemente, diminuir a digestibilidade fecal aparente da proteína (Mroz *et al.*, 1996). Com efeito, de acordo com Russell *et al.* (1992), a biomassa bacteriana que se acumula nas fezes é constituída por cerca de 625 g de proteína/kg MS. Processos como a erosão mecânica da superfície da mucosa e aumento da síntese e migração das células epiteliais com a fibra são conhecidos e também influenciam negativamente a digestibilidade fecal aparente da proteína. Finalmente, é também conhecido que a **digestibilidade fecal aparente da gordura e da cinza** diminui com o aumento do teor de fibra na dieta, pelos motivos genéricos atrás descritos (Just, 1983; Wilfart *et al.* 2007). No caso da cinza pode ocorrer interações da fibra com outros componentes como os fitatos, taninos ou oxalatos que dificultam a absorção mineral (Harland, 2006)

2.4 - Morfologia da parede do intestino delgado e do intestino grosso

A parede intestinal é constituída por quatro camadas principais: **serosa**, **muscular**, **sub-mucosa** e **mucosa**. A serosa é uma zona de tecido epitelial pavimentoso simples, sustentada por uma fina camada de tecido conjuntivo; a muscular tem duas zonas distintas de fibra muscular lisa, uma circular e outra longitudinal, e é responsável pelos movimentos peristálticos; a sub-mucosa consiste numa camada de tecido conjuntivo laxo, entre a muscular e a mucosa (Frandsen *et al.*, 1976) (**Figura 2**). Porém, a porção mais interna da parede intestinal, a mucosa (**Figura 3**), é a mais complexa sendo formada por três zonas bem distintas. A parte mais interna é a **muscular da mucosa**, constituída por fibras musculares que conferem um movimento de rotação às vilosidades (Frandsen *et al.*, 1976; Moran, 2008); a zona intermédia designa-se de **lâmina própria** e é formada por tecido conjuntivo intensamente povoado de capilares sanguíneos e linfáticos, formando projecções na direcção do lúmen intestinal; a região mais externa da mucosa é uma camada única de **células epiteliais**, que formam duas regiões morfológicamente e funcionalmente distintas: as **vilosidades** e as **criptas**.

As vilosidades são projecções com forma de dedos ou mais planas, originadas por divisão mitótica desde as criptas, com a sua superfície dominada por um mosaico de **enterócitos** e **células de goblet**. Os enterócitos são células digestivas e absorptivas, especialmente as do terço superior das vilosidades, exibem **microvilosidades** que fazem aumentar significativamente a superfície da mucosa (Van Dijk *et al.*, 2002; Moran, 2008), projectando glicocálice, que são cadeias variáveis de açúcares e glicoconjugados, com funções de protecção e digestão/absorção (Van Dijk *et al.*, 2002).

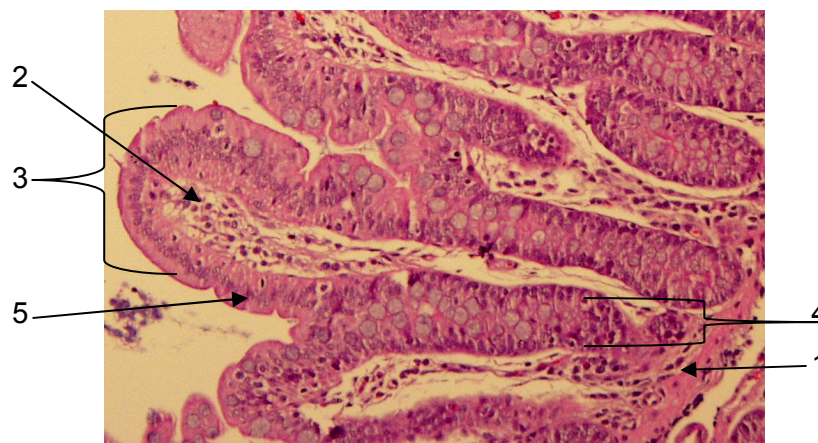
Figura 2. Corte histológico (objectiva 10x) onde se distingue as camadas muscular, sub-mucosa e mucosa.



1: muscular; 2: sub-mucosa; 3: mucosa

As células de goblet, são responsáveis por sintetizar, acumular e segregar muco, que é uma mistura heterogênea constituída por água (95%), electrólitos (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}), hidratos de carbono, aminoácidos, lípidos e proteínas (Verdugo, 1990). O muco tem propriedades viscoelásticas conferidas pela mucina (glicoproteína), que é constituída por uma base de péptidos à qual se ligam longas ramificações de açúcares que são terminadas com grupos ácido, sulfato ou siálico, podendo conferir maior ou menor acidez às mucinas (Neutra e Forstner, 1987; Van Dijk *et al.*, 2002). A junção entre o muco segregado e o glicocálice forma uma camada de água com funções de lubrificação e protecção (Van Dijk, 2002; Moran., 2008).

Figura 3. Corte histológico (objectiva 10x) da mucosa intestinal.



1: muscular da mucosa;
2: lâmina própria;
3: vilosidade;
4: cripta
5: células epiteliais

As criptas, que se encontram entre as vilosidades como invaginações epiteliais, contêm dois tipos distintos de células. As mais importantes são as **células estaminais** que migram e se diferenciam em células epiteliais maduras nas vilosidades, mas que também podem formar outras criptas e iniciar novas vilosidades, permitindo a expansão da densidade destas na parede intestinal (Loeffler e Grossmann, 1991; Moran., 2008). Existem também as **células de Paneth**, que têm funções imunitárias e digestivas.

Existem claras diferenças na morfologia da mucosa intestinal entre o intestino delgado e o intestino grosso. No intestino delgado as vilosidades aumentam do duodeno até metade do jejuno, diminuindo depois até ao íleo (Yen, 2001). A mucosa do intestino grosso não tem vilosidades, a lâmina própria é mais espessa e as criptas são mais profundas, não contendo células de Paneth, mas com maior número de células de goblet (Ham, 1975).

2.4.1- Sistema imunitário associado à parede intestinal

A parede intestinal desempenha um importante papel imunitário, constituído por vários mecanismos de resposta a agentes patogénicos. A camada de muco é um componente dinâmico da defesa intestinal, constituindo a primeira barreira de protecção para os enterócitos a agressões químicas, microbiológicas ou físicas (Van Dijk *et al.*, 2002; Gaskins, 2005). A protecção do epitélio contra os microrganismos intestinais reside na capacidade dos hidratos de carbono do muco inibirem os receptores microbianos. As bactérias intestinais incapazes de se ligarem ao muco, ou são excretadas ou envolvem-se no conteúdo luminal, acreditando-se que as que residem no muco previnam o ataque de patogénicos ao ocuparem locais de ligação (Gaskins, 2005). A natureza química das mucinas vai influenciar a resposta imunitária, dado que mucinas sulfatadas reforçam a função protectora do muco quando ocorrem infecções (sub) clínicas e aumentam o número de células de goblet (Van Dijk *et al.*, 2002).

A apertada junção entre os enterócitos promove uma barreira física que impede a passagem de macromoléculas e microrganismos para a lâmina própria (Van Dijk *et al.*, 2002). Segundo os mesmos autores, quando a continuidade desta estrutura é afectada terá de haver migração de células de áreas adjacentes, estimulada pela síntese de promotores de crescimento / proliferação. Os enterócitos sintetizam defensinas bactericidas e citocinas pró-inflamatórias (e.g interleucina-8), para além de também atraírem e activarem monócitos / macrófagos. Pode haver também a síntese de proteínas de choque térmico, que é uma resposta não específica a situações como o stress, toxinas, mudanças da pressão osmótica ou de pH que permitem às proteínas celulares sobreviverem em condições adversas, ajudando o intestino a manter a integridade da parede às constantes agressões provindas do lúmen (Lindquist, 1986). Por seu turno as células de Paneth, nas criptas, segregam lizosimas no lúmen que regulam a flora intestinal (Frandsen, 1976).

Na lâmina própria existem populações difusas de linfócitos T e B, plasmócitos, macrófagos, mastócitos, eosinófilos e em menor quantidade células dendríticas, neutrófilos e fibroblastos (Kagnoff, 1993). A lâmina própria por ser muito vascularizada e densamente enervada, tem um importante papel na motilidade intestinal e na defesa inata (Gaskins, 2005). Em resposta às toxinas bacterianas ou a antigénios alimentares, as células da lâmina própria segregam citocinas e lípidos bioactivos que vão aumentar a motilidade e o afluxo de sangue ao intestino, inibindo também a absorção e estimulando a secreção de água e iões pelo epitélio, culminando numa diarreia secretória que é o mais comum dos sintomas da inflamação intestinal (Hinterlaitner e Powell, 1991).

Os linfócitos T intestinais (linfócitos intraepiteliais, da lâmina própria e das placas de Peyer) são um dos componentes chave da primeira linha de defesa intestinal, dado que têm uma localização anatómica “estratégica” (Guy-Grand *et al.*, 1993). O tecido linfoide da superfície da mucosa e da lâmina própria, segrega continuamente imonoglobulina A (IgA) para protecção da superfície (Rojas e Apodaca, 2002; Vaughn *et al.*, 2006). Os plasmócitos segregam anticorpos específicos IgA e os anticorpos resultantes fornecem protecção primária prevenindo a aderência de bactérias ou toxinas às células epiteliais (Kagnoff, 1993).

2.4.2- Absorção de nutrientes na parede intestinal

As macromoléculas dispersas no lúmen intestinal são sujeitas à acção de enzimas que vão solubilizar os nutrientes. Existe uma competição entre os microrganismos por nutrientes antes destes passarem para a camada de água (Moran, 2008). As microvilosidades têm então um papel activo na digestão, utilizando elementos internos contrácteis para envolver as enzimas existentes sobre a membrana externa – protegidas que estão das enzimas pancreáticas –, com o substrato de reduzido tamanho chegado do lúmen (Smithson *et al.*, 1981).

A absorção dos produtos finais da digestão pelas vilosidades está confinada à sua metade superior, dado que é aqui que a exposição ao conteúdo do lúmen é máxima, facilitada também pelos movimentos intestinais (Moran, 2008). Parte das glicoproteínas existentes nos enterócitos funcionam como proteínas de absorção transmembranar (Buddington, 1997), sendo essa absorção feita por transporte activo. Como tal, é necessário que a região absorptiva das vilosidades tenha um grande afluxo sanguíneo, não só para receber os nutrientes, mas também para fornecer oxigénio para que o transporte possa ocorrer (Komuro e Hashimoto, 1990). Existe também transporte passivo, nomeadamente para a absorção de água, ácidos gordos voláteis e outras moléculas de reduzido tamanho.

2.5- Efeito da fibra sobre a parede intestinal

As propriedades físicas da fibra ao interagir com a microflora e com a mucosa do trato gastrointestinal, fazem com que esta tenha um importante papel na morfologia intestinal, na absorção de nutrientes e consequente saúde intestinal do animal.

2.5.1- Modificação da morfologia intestinal

É sabido que a fibra influencia a morfologia intestinal e a taxa de renovação das células da mucosa. No estudo de Jin *et al.* (1994) não se encontrou diferenças no comprimento das vilosidades em regimes com mais ou menos fibra incorporada, mas a largura das vilosidades foi maior nos regimes ricos em fibra.

A adição de fontes de fibra solúvel (e.g pectinas) na dieta de leitões pode ter impactos negativos, dado que causa geralmente um aumento da viscosidade do conteúdo intestinal e da taxa de perda de células nas vilosidades, o que leva à atrofia das mesmas (Hedemann *et al.*, 2006). Contudo, McDonalld *et al.* (2001) com uma fibra sintética solúvel mas pouco viscosa (carboximetilcelulose), encontraram aumentos de altura nas vilosidades e uma maior produção de muco.

Fontes de fibra insolúvel, aumentam o peso e comprimento relativo do intestino delgado (Stagonias e Pearce, 1985). Tudo isto ocorre em resposta a uma maior actividade para misturar, modelar, movimentar e excretar grandes volumes de material não digestível (Pluske *et al.*, 2001). A estimulação mecânica provocada pela fibra vai influenciar a divisão das células da mucosa intestinal e aumentar a altura das vilosidades e profundidade das criptas (Graham e Aman, 1991). O aumento da proliferação das células das criptas pode ser explicado pelo efeito trófico do butirato, pois este não actua exclusivamente no cólon podendo também estimular o crescimento e a proliferação celular no intestino delgado (Bach Knudsen *et al.*, 2008). De acordo com os resultados de Jin *et al.* (1994), a fibra insolúvel resulta numa maior profundidade das criptas no jejuno e íleo, mas para Hedemann *et al.* (2006) a concentração de fibra não afecta a morfologia intestinal nos leitões recém desmamados. No intestino delgado Serena *et al.* (2007) também não encontraram alterações morfológicas, com diferentes teores e fontes de fibra nos regimes, em porcas. A fibra promove também uma maior produção de mucina no intestino grosso (Montagne *et al.*, 2003).

2.5.2- Diferenciação e maturação das células da mucosa intestinal

Uma vez existentes, os pré-enterócitos e as pré-células de goblet localizados na base das vilosidades migram progressivamente para o topo e assumem as características necessárias para participar na absorção de nutrientes (Moran, 2008). As células epiteliais que se encontram entre as criptas e as vilosidades são células em trânsito, que vão renovar

naturalmente as células epiteliais das vilosidades, dado que existe uma programação de apoptose (3-6 dias) e uma natural descamação celular (Baserga, 1985).

A superfície funcional dos enterócitos maduros baseia-se na formação das microvilosidades, na inserção das enzimas à superfície e na adição da rede de glicocálice, (Fan *et al.*, 2001). A estimulação mecânica provocada pela fibra vai influenciar a divisão das células na mucosa intestinal (Graham e Aman, 1991). Jin *et al.* (1994) ao alimentarem porcos em crescimento com uma dieta rica em fibra, observaram um aumento da renovação das células da mucosa intestinal. Como as criptas são o principal local de proliferação celular na mucosa intestinal, tais resultados em conjunto com o aumento das taxas de proliferação (nas criptas) e da morte de células (nas vilosidades) suportam a hipótese de que altas concentrações de fibra aumentam a actividade mitótica e consequentemente a taxa de renovação das células da mucosa intestinal. Desta maneira as células podem ser substituídas antes mesmo de atingirem a maturação, comprometendo o seu bom funcionamento

2.5.3- Efeito na absorção de nutrientes

As propriedades físico-químicas da fibra vão influenciar a absorção de nutrientes. A fibra estimula as secreções endógenas e aumenta a viscosidade luminal, interferindo com o processo de digestão no intestino delgado ao dificultar o contacto entre o substrato e as enzimas digestivas, por abrandar os movimentos dos produtos da hidrólise no processo de digestão (Bach Knudsen *et al.*, 2008). Desta forma, a fibra pode reduzir a absorção de glucose e retardar o seu pico de concentração no sangue (Ellis *et al.*, 1995). Bach Knudsen *et al.* (2000) encontraram também reduções na absorção de ácido láctico e dos ácidos gordos voláteis com dietas enriquecidas em fibra, e Huang *et al.* (2001) encontraram o mesmo efeito para os aminoácidos. Por seu turno, a fibra solúvel tem um papel particular na redução da absorção de nutrientes, dado que ao aumentar a actividade fermentativa está também a aumentar a excreção de substâncias microbianas (Rainbird *et al.*, 1994).

2.6- Efeito prébiotico associado à fibra e outros oligossacáridos

O conceito de prébiotico foi originalmente definido em **1995** por Gibson e Roberfroid como sendo “um ingrediente não digestível que afecta benéficamente o hospedeiro através da estimulação selectiva do crescimento e/ou actividade de uma ou de um limitado número de bactérias no cólon, o que melhora a saúde do hospedeiro”, atraindo desde logo o interesse da comunidade científica e industrial. Contudo, após um período pouco consensual, o conceito foi redefinido em **2004** por Gibson *et al.* como sendo “uma fermentação selectiva de ingredientes, que leva a transformações específicas na composição e/ou actividade da microflora gastrointestinal, o que confere benefícios de saúde e bem-estar”. Ainda assim,

Macfarlane *et al.* (2006) reclamam que a definição necessita de ser clarificada, nomeadamente em questão ao conceito de não digestível e aos parâmetros exactos que constituem a modificação selectiva dos microrganismos.

De acordo com Gibson *et al.* (2004), há três aspectos que merecem especial importância na definição: ser **resistente à digestão**, ser **fermentado pelo microbiota** do intestino grosso e a modificação da microflora ter **efeitos promotores de saúde**. A questão de ser resistente ao ácido gástrico, à hidrólise por enzimas do animal e à absorção gastrointestinal, não significa necessariamente que seja completamente indigestível, mas garante que uma parte significativa da mistura é utilizada na parte mais distal do trato gastrointestinal como substrato de fermentação (Roberfroid, 2007). A alteração da microflora intestinal pode ocorrer através de duas formas: (1) fornecimento de nutrientes para as bactérias desejáveis; (2) reconhecimento pelas bactérias patogénicas de sítios de ligação nas substâncias prébioticas (Furlan *et al.*, 2004), aumentando a sua excreção fecal.

Existem vários oligossacáridos não digestíveis com potencial efeito prébiotico. Os principais são a inulina, fructo-oligossacáridos e galacto-oligossacáridos / transgalacto-oligossacáridos, de entre outros como os xilo-oligossacáridos, lactulose, etc (Macfarlane, 2006). Contudo, também os polissacáridos não amiláceos podem atingir o intestino grosso e ser substrato de fermentação para as bactérias, podendo afectar o seu crescimento e actividade metabólica (Stephen e Cummings, 1980), sendo por isso reclamados como tendo um efeito prébiotico (Roberfroid, 2007). O mesmo acontece com o amido resistente, alguns polióis e lactose (Macfarlane, 2006). De acordo com a literatura, a diferença da actuação das substâncias prébioticas em relação à fibra no seu geral é que os prébióticos provocam um profundo enriquecimento de bactérias específicas.

Para além de modificações no ecossistema gastrointestinal, foram também reportadas alterações no ambiente químico, nomeadamente uma maior produção de ácidos gordos voláteis e uma diminuição do pH luminal (Mikkelsen *et al.*, 2003), pela maior secreção de acetato e lactato (Moeller *et al.*, 1990), restringindo o desenvolvimento de algumas espécies patogénicas (Rasic, 1983). Está demonstrado que após a ingestão de substâncias com efeito prébiotico há uma variação na actividade de diversas enzimas bacterianas (glucoronidases, glucosidases, nitroreductases), na produção de ácidos gordos voláteis e nos produtos finais da fermentação de aminoácidos, mucinas ou esteróis (Roberfroid, 2007).

Uma das grandes vantagens do uso de prébióticos em relação aos probióticos, é que estes últimos vão introduzir microrganismos no trato gastrointestinal que têm de competir com a flora estabelecida e os prébióticos apenas vão beneficiar determinadas espécies já presentes (Macfarlane *et al.*, 2007). Porém, segundo os mesmos autores, se por alguma razão (doenças, envelhecimento ou terapia com antibióticos) os microrganismos alvos não

estiverem presentes, o efeito prébiotico não acontece. De acordo com os resultados de Pires de Lima (2005), regimes enriquecidos com substâncias prébióticas, conseguem resultados zootécnicos e sanitários bem mais elevados do que os probióticos ou extractos vegetais, sendo por isso a melhor alternativa aos antibióticos como promotores de crescimento.

2.6.1- Efeito na microflora intestinal

Os prébióticos alteram a composição e/ou o balanço dos microrganismos no lúmen ou na mucosa intestinal, aumentando nomeadamente as bactérias do género *Bifidobacteria* e *Lactobacilli*, em detrimento dos *Bacteroides*, *Clostridia*, *Eubacteria*, *Enterobacteria* e *Enterococci* (Macfarlane *et al.*, 2006). Os géneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* não contêm espécies patogénicas conhecidas e são as bactérias que primariamente fermentam os hidratos de carbono (Macfarlane *et al.*, 2006). São-lhes atribuídas várias propriedades benéficas para a saúde do hospedeiro como a produção de ácidos gordos voláteis, imunoestimulação e efeitos inibitórios no crescimento de patogénicos (Gibson e Roberfroid, 1995). Em relação aos *Lactobacilli* considera-se que têm uma relação simbiótica com o hospedeiro e que as *Bifidobacteria* são fundamentais para a fermentação dos elementos não digestíveis das dietas (Miguel e Pettigrew, 2005). Contudo, os prébióticos não são inteiramente específicos e outros microrganismos podem ser estimulados através do seu uso (Roberfroid, 2007), nomeadamente, muitos grupos sacarolíticos (Macfarlane *et al.*, 2006). De acordo com os mesmos autores, quanto mais se identificarem e caracterizarem os géneros, espécies e as estirpes bacterianas que compõem a microflora intestinal, em melhor posição estamos de descrever, qualitativa e quantitativamente, mudanças na composição das bactérias e perceber como interagem e como contribuem para modular a fisiologia intestinal, nomeadamente no cólon.

Os polissacáridos não amiláceos têm um grande efeito na microflora do ceco e cólon enquanto que o amido é um importante substrato energético para a fermentação microbiana (Pluske, 2001). Especialmente as *Bifidobacteria* aumentam muito após a inclusão de oligossacáridos não digestíveis (Gibson *et al.*, 2005). Segundo Macfarlane *et al.* (2006), a oligofrutose, galacto-oligossacáridos e lactulose aumentaram claramente as *Bifidobacteria* e *Lactobacilli* no intestino grosso, o mesmo acontece com β -gluco-oligossacáridos e xilo-oligossacáridos (Jaskari *et al.*, 1998). A formação de acetato e lactato é consistente com o metabolismo das *Bifidobacterias* e *Lactobacillus*, já o butirato provém de outros microrganismos (Macfarlane *et al.*, 2007). Em 1997 Houdijk *et al.* encontraram uma diminuição do total de anaeróbios no íleo quando foi incorporado oligofrutoses ao regime. Acredita-se que os prébióticos irão ser instrumentos únicos para criar uma microflora controlada no cólon, relacionada com condições fisiológicas específicas (Roberfroid, 2007).

2.6.2- Controlo da ocorrência de diarreias

É conhecido que as substâncias com efeito prébiotico são benéficas para a saúde do animal em termos da prevenção de diarreia e imunomodulação (Macfarlane *et al.*, 2006). Há autores que reportaram um aumento nas performances de crescimento e reduções na ocorrência de diarreias quando se adicionaram oligossacáridos aos regimes alimentares (Mul e Perry, 1994). A produção de ácidos orgânicos e a redução do pH aquando da fermentação de oligossacáridos no trato gastrointestinal dos leitões, pode prevenir o estabelecimento da *Escherichia coli*, que está associada ao aparecimento da diarreia após o desmame (Mikkelsen *et al.*, 2003). É sabido que os prébióticos vão beneficiar as *Bifidobacterias* e os *Lactobacillus*, microrganismos que vão desempenhar um importante papel na eco-fisiologia do microbiota do cólon, dado que estão ligados a aumentos de resistência a infecções e diarreias, bem como à estimulação do sistema imunitário, havendo com o seu declínio aumentos do número de *Clostridium* e *Enterobacteria* potencialmente perigosas (Bartosch *et al.*, 2005). Neste contexto, sabe-se que o butirato promove a colonização intestinal por *Lactobacillus* em detrimento da *Escherichia coli* (Jin *et al.*, 2000). Os recentes resultados de Wellock *et al.* (2007) mostram uma melhoria na relação entre *Lactobacillus* e Coliformes e uma redução do pH luminal, com dietas ricas em inulina. Por outro lado, em caso de depleção nos hidratos de carbono como fonte de energia, a fermentação no intestino grosso torna-se mais proteolítica, o que aumenta a concentração de amónia no cólon e predispõe os leitões a diarreias (Konstantinov *et al.*, 2003).

Contudo, há autores que não encontraram diferenças significativas na consistência das fezes aquando da utilização de prébióticos (Houdjik *et al.*, 1998; Mikkelsen *et al.*, 2003). Outros trabalhos indicam também que elevados valores de prébióticos levam à formação excessiva de H₂ e à ocorrência de diarreia osmótica causada por níveis demasiado altos de ácidos gordos voláteis, o que pode ser um obstáculo à utilização livre de prébióticos (Oli *et al.*, 1998; Macfarlane *et al.*, 2007).

2.7- Os dreches de cerveja: caracterização e composição

A cevada é o cereal mais importante na elaboração da cerveja. Em termos taxonómicos pertence à família das Gramíneas, sub-família *Festucoideae*, classe *Hordae* e género *Hordeum*. Existem dois tipos de cevada; a cevada dística (cada nó da flor produz dois grãos de cevada) e a hexástica (cada nó da flor produz seis grãos), predominando na Europa o primeiro tipo. É um cereal rico em amido (**Quadro 3**), composto por três partes principais: gérmen, endosperma (aleurona e endosperma amiláceo) e pelo revestimento do grão (tegumento, pericarpo e casca). A cevada, quando germina, ao produzir quantidades relativamente elevadas de α -amilase e β -amilase, leva a uma rápida e completa

degradação do amido, acompanhada também pela hidrólise de proteínas e polissacáridos não amiláceos (Pomeranz e Chairman, 1973).

Quadro 3. Composição média do endosperma do grão de cevada (adaptado de Aquarone et al., 1983).

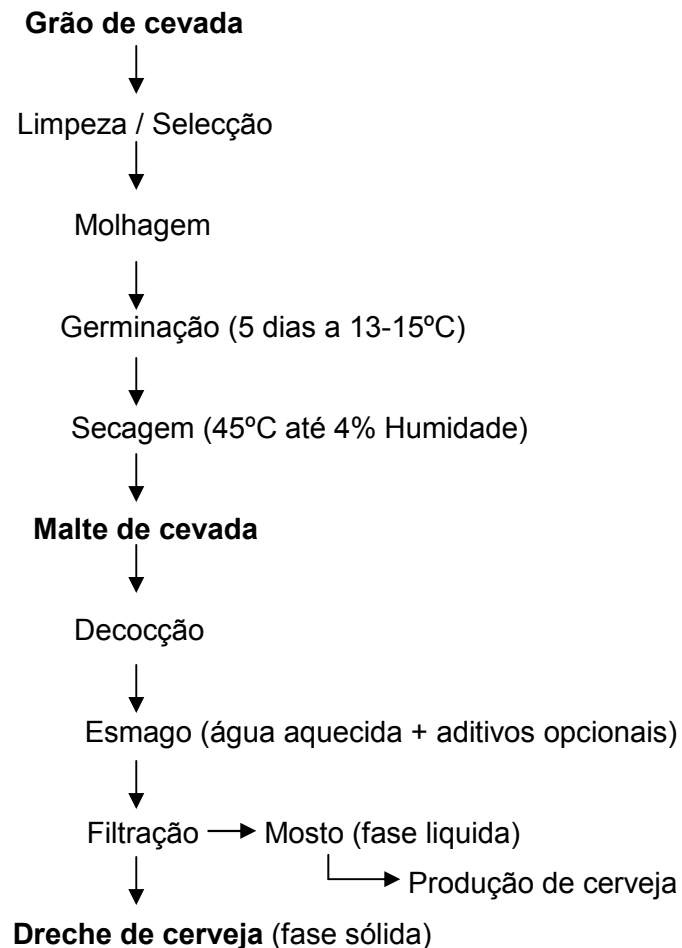
	g/100g MS
Amido	63 - 65
Sacarose	1 - 2
Outros açúcares	1
Hemicelulose	8 - 10
Lípidos	2 - 3
Proteínas ^a	8 - 13
Cinzas	2 - 2,5
Outros	5 - 6

^a Predominantemente albumina, prolamina e globulina

De acordo com Mussato *et al.* (2007), para o fabrico da cerveja a cevada é limpa e classificada de acordo com o seu tamanho, antes do processo de maltagem que decorre em três fases: (1) molhagem, (2) germinação e (3) secagem, que lhe vai alterar as propriedades físico-químicas. A molhagem ocorre em tinas de molha durante 1 dia, permitindo tirar dos grãos a poeira, activar a respiração do gérmen e obter uma boa difusão enzimática em todo o grão (Moura e Sobral, 1987). Os grãos vão permanecer depois em caixas de germinação durante 5 dias, sendo regularmente humidificados, revolvidos e arejados, ocorrendo a actuação, activação ou síntese das enzimas amilolíticas, proteolíticas e β -glucanases (Fernandes, 2002). O grau de germinação pretendida resulta de um compromisso entre a modificação proteica e a produção de amilases, com a perda de amido para respiração e síntese de novos tecidos (Reed e Rehm, 1983). O grão de cevada germinado é depois seco originando o malte, até atingir 4% de humidade de modo a evitar *flavours* e contaminações microbianas (Mussato *et al.*, 2007). Entra-se depois na fase de brassagem geralmente pelo método de decocção, para se fabricar o mosto, onde são extraídos 85% dos hidratos de carbono (Moura e Sobral, 1987). Segundo os mesmos autores, vai-se aumentando a temperatura da caldeira das caldas até aos 100°C e após cerca de 30 minutos 1/3 da mistura é transferida para a caldeira de empastagem, que se encontra a uma temperatura mais baixa, até se atingir uma temperatura final de 76°C. Nas caldeiras de empastagem o malte, depois de moído, é misturado com água a 37-38°C o que, para além de promover a hidrólise enzimática do amido em açúcares fermentescíveis (principalmente maltose e maltotriose), açúcares não fermentescíveis (Dextrinas), promove também a degradação parcial da proteína em polipeptidos e aminoácidos (Mussato et al., 2007). Origina-se um mosto que é filtrado num recipiente de decantação, onde as matérias insolúveis que vão

constituir os dreches de cerveja são separadas antes de se prosseguir com o processo de fabrico, que consiste na transformação dos açúcares em álcool (Boessinger *et al.*, 2005) (**Figura 4**).

Figura 4. Representação esquemática da obtenção de dreches de cerveja (adaptada de Mussato *et al.*, 2007).



O dreche de cerveja apesar de ser basicamente constituído pela casca, tegumento e pericarpo dos grãos de cevada (Mussato *et al.*, 2007), é um produto heterogéneo, cuja composição química varia de acordo com a variedade de cevada e o ano de colheita, com as condições de todo o processo produtivo e com os aditivos adicionados no processo de fabrico da cerveja (açúcares fermentescíveis e/ou outras substâncias não amiláceas) (Santos *et al.*, 2002). O dreche de cerveja tem um teor muito elevado de humidade (>70% p/p) e é considerado um material lenhino-celulósico rico em proteína ($\pm 20\%$ MS) e fibra ($\pm 70\%$ MS), nomeadamente arabinoxilanos, lenhina e celulose, possuindo também uma quantidade considerável de lípidos (**Quadro 4**). Também pode apresentar teores consideráveis de sílica e compostos fenólicos (taninos) (Macleod, 1979). Encontram-se em pouca quantidade (<0.5% no dreche) cálcio, cobalto, cobre, ferro, magnésio, manganês,

fósforo, potássio, selênio, sódio e enxofre, é um produto relativamente rico em vitaminas hidrossolúveis sendo os aminoácidos mais limitantes a tirosina, prolina, treonina, arginina e a lisina (Huige, 1994).

Quadro 4. Composição química dos dreches de cerveja (D.C).

Componente (%MS)	D.C ¹	D.C ²
Celulose	24.5	16.8
Arabinosilanos	21.8	28.4
Lenhina	11.9	27.8
Proteína	24.0	15.2
Lípidos	10.6	nd
Cinza	2.4	4.6

¹ Segundo Kanauchi et al. (2001)

² Segundo Mussato e Roberto (2005)

nd: Não determinado

O seu valor de energia bruta é de 3030-3170 kcal / kg MS (Oluponna *et al.*, 2002) e devido ao seu processo de fabrico poderá apresentar algum amido e açúcares livres fermentescíveis. No **quadro 5** está expressa a composição do dreche em polissacáridos não amiláceos e seus monossacáridos, comparando-se duas variedades de cevada.

Os dreches para além de serem um subproduto relativamente barato, têm algum potencial nutritivo (Santos *et al.*, 2002). Frescos, ensilados ou secos, apresentam-se como um complemento proteico interessante, especialmente para bovinos e ovinos (Boessinger *et al.*, 2005). Os **dreches frescos**, de acordo com a curva de produção de cerveja, estão disponíveis em maiores quantidades na primavera e verão (Boessinger *et al.*, 2005). Porém, devido ao seu conteúdo em água e dificuldade de conservação, devem ser utilizados por explorações relativamente próximas das unidades de produção e consumidos em poucos dias (Mussato *et al.*, 2007). Os dreches frescos podem ser **ensilados** mas sempre com uma fonte de hidratos de carbono fermentescível, para maior acidificação e consequente estabilidade da silagem. Já os **dreches secos**, têm um teor mais elevado de fibra o que pode limitar a sua utilização em animais monogástricos, mas é a melhor forma de serem comercializados e utilizados, já que reduzem o volume do produto e os custos de transporte (Santos *et al.*, 2002).

O uso de subprodutos agro-industriais, como as dreches de cerveja, reveste-se de uma especial importância nas regiões do globo mais desfavorecidas, onde há uma concorrência entre seres humanos e animais devido à escassez de cereais para alimentação (Amaefule *et al.*, 2006). Segundo os mesmos autores, espera-se que este tipo de subprodutos seja uma alternativa a alguns alimentos convencionais, reduzindo os custos de alimentação dos suínos.

Quadro 5. Composição de polissacáridos não amiláceos e seus monossacáridos de dreches de cerveja em duas variedades de cevada (Adaptado Vietor *et al.*, 1993).

Componente	Var. Triumph	Var. Golf
Amido aparente ¹	26	5
P.N.A ^a ¹	24	37
β -glucanos ¹	0,67	0,61
Arabinose ²	25	21
Xilose ²	35	44
Manose ²	3	2
Galactose ²	5	3
Glucose ²	34	31

^a Polissacáridos não amiláceos

¹ % p/p na MS

² mol na % PNA

2.7.2- Utilização dos dreches pelos suínos

Os dreches de cerveja têm sido especialmente utilizados, há já alguns anos, na alimentação de vacas leiteiras, com bons resultados produtivos, devido ao alto conteúdo em proteína e fibra. Se para os animais ruminantes os dreches de cerveja podem ser fornecidos frescos ou ensilados, para os monogástricos terão de ser secos. A grande limitação na utilização dos dreches de cerveja em suínos é o seu elevado teor fibroso, havendo necessidade de determinar em que medida os suínos podem digerir e retirar nutrientes de dietas com altos níveis de dreches de cerveja (Amaefule *et al.*, 2006). Para Boessinger *et al.* (2005) é considerado um alimento “marginal” devido à baixa digestibilidade da celulose nos suínos (< 50%).

Não têm sido realizados muitos estudos sobre a incorporação de dreches de cerveja nos regimes alimentares de suínos e os que têm sido feitos visam os animais em crescimento/acabamento e as porcas reprodutoras. Não há, portanto, informação sobre a utilização de dreches de cerveja pelo leitão onde o interesse da sua utilização reside no potencial efeito da fibra e outros oligossacáridos na saúde intestinal.

Dos trabalhos já efectuados conclui-se que os dreches de cerveja, para além de serem uma fonte proteica para suínos em crescimento, são também uma matéria-prima interessante quando as mais utilizadas para esse efeito não estiverem disponíveis. O estudo de Kornegay em 1973 remete para que valores altos (52%) de dreche de cerveja nos regimes reduzem a digestibilidade da energia e da proteína, bem como a quantidade diária ingerida. Tais efeitos estão provavelmente relacionados com o elevado teor em fibra bruta dos dreches, que afecta negativamente a digestibilidade e a disponibilidade de aminoácidos e outros nutrientes (Yaakugh e Tegbe, 1990), não sendo de descuidar um potencial efeito prejudicial do teor de taninos e/ou da sílica existente. Contrariamente, Amaefule *et al.* (2006)

concluíram que apesar do teor ótimo de incorporação no regime ser de 35%, os porcos em crescimento suportam até 40% de inclusão de dreches de cerveja, sem consequências adversas na digestibilidade e absorção de nutrientes. Em termos reprodutivos, Wahlstrom e Libal (1976), demonstraram que em porcas, níveis de 20 ou 40% de dreches de cerveja na ração não prejudicam as performances reprodutivas, aumentando até a ingestão de 10 a 20%, para igualar a ingestão de energia digestível. Todavia, alguns resultados contraditórios podem-se justificar pela heterogeneidade na composição do dreche de cerveja.

2.8 – Objectivo

O presente trabalho tem como principais objectivos estudar o efeito da natureza da fibra na digestibilidade fecal aparente, na actividade fermentativa, na morfologia da parede da mucosa intestinal e na consistência das fezes em leitões desmamados precocemente. Para tal compara-se duas fontes de fibra: a sêmea de trigo e os dreches de cerveja (sujeito ou não a lavagem).

III – Material e métodos

O presente ensaio decorreu nas instalações experimentais da Secção de Produção Animal do Instituto Superior de Agronomia (I.S.A) e teve como objectivo estudar o efeito da inclusão de dreches de cerveja na alimentação de leitões no período pós-desmame.

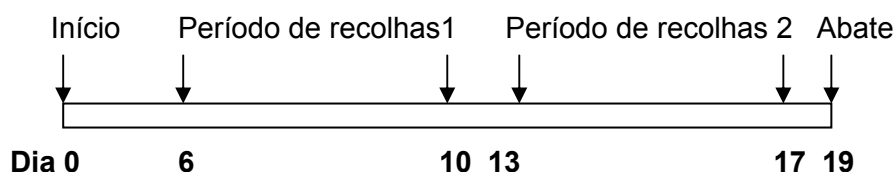
3.1- Animais

Foram utilizados trinta e dois leitões (machos), resultantes de um cruzamento industrial entre as raças Duroc e Landrace. Os leitões desmamados com vinte e oito dias, tendo começado o ensaio com cerca de trinta dias e com um peso médio inicial de $7,18 \pm 0,80$ kg, foram divididos aleatoriamente em quatro grupos de oito animais equilibrados em função do peso vivo. Os animais de cada grupo receberam durante três semanas um dos quatro regimes alimentares, cuja composição se encontra nos **quadros 5 e 6**.

Devido a limitações das instalações, o ensaio foi realizado em duas repetições de dezasseis leitões. A segunda repetição sucedeu-se à primeira, com um dia de intervalo para limpeza das instalações. Durante o ensaio os leitões foram individualmente alojados em gaiolas metabólicas, equipadas com comedouro, bebedouro tipo chupeta, piso ripado e tabuleiros em aço inoxidável de forma a permitir a recolha separada das fezes e da urina. A sala onde decorreu o ensaio dispunha de ventilação forçada e estava equipada com ar condicionado, o que permitiu manter a temperatura ambiente a 26°C durante o desenrolar do ensaio.

Após a distribuição dos leitões pelos lotes, iniciou-se um período de cinco dias de adaptação ao regime. Seguiram-se dois períodos (**Figura 5**), de cinco dias cada (com dois dias de intervalo entre eles), de recolha matinal diária e individual de fezes e urinas, para posterior determinação da digestibilidade fecal aparente e balanço azotado. As urinas foram recolhidas em 10ml de H_2SO_4 a 5% (para conservação do azoto) e através do registo da consistência fecal analisou-se a ocorrência de diarreias. Quer as fezes quer as urinas, após a recolha e pesagem foram imediatamente conservadas no frio (-20°C). Por sua vez, procedeu-se ao controle diário da ingestão através da pesagem individual do alimento distribuído e da recolha e pesagem do alimento refugado. O controle do peso vivo foi feito no dia de chegada, ao quinto e décimo segundo dia de ensaio e no dia do abate.

Figura 5. Esquema representativo do ensaio realizado.



No final do período experimental os leitões foram abatidos, com 12 horas de jejum, por sangria após injeção intramuscular de Stresnil® (Azaperona, 40mg/ml). Ao abate procedeu-se à recolha de amostras de conteúdo intestinal, para posterior determinação da matéria seca, ácidos gordos voláteis e actividade enzimática. Recolheram-se igualmente amostras de mucosa intestinal para subsequente observação microscópica das vilosidades e das criptas. O desenvolvimento do tubo digestivo foi controlado pelo registo dos pesos cheio e vazio do estômago, intestino delgado e intestino grosso; do comprimento do intestino delgado e intestino grosso; também pelo registo do peso do pâncreas, fígado e vesícula, órgãos do aparelho digestivo, e do baço, um órgão linfóide; e pela determinação do pH dos conteúdos do estômago, ceco e cólon.

3.2- Regimes alimentares.

Os regimes alimentares foram preparados na fábrica de alimentos compostos da Secção de Produção Animal do I.S.A. Com base no valor médio dos resultados analíticos das amostras das matérias-primas incorporadas, formularam-se quatro regimes sensivelmente equilibrados em proteína e nos aminoácidos essenciais. Os regimes foram formulados respeitando as recomendações do NRC (1998), para regimes de leitões entre os 5 e os 20kg de peso vivo. Seguindo a metodologia exposta, fabricou-se um regime base (**RB**), e outros três enriquecidos com fibra cuja fonte diferia: sêmea de trigo (**Sêmea**), dreche de cerveja não lavado (**DNL**) e dreche de cerveja lavado (**DL**) (**Quadros 6 e 7**). Para o estudo do efeito da inclusão dos dresches de cerveja, os regimes base e sêmea serviram de controlo negativo e positivo, respectivamente.

Na preparação dos regimes procedeu-se primeiramente à moenda das matérias-primas, num moinho de martelos móveis com crivo de 3mm de diâmetro. Seguidamente as matérias-primas foram pesadas e misturadas, utilizando-se uma misturadora horizontal com fita em espiral. Finalmente os regimes foram granulados numa prensa com um crivo de 3mm de diâmetro. Após a granulação e posterior arrefecimento, foram recolhidas duas amostras de cada regime para posterior análise laboratorial.

O alimento foi distribuído igualmente a todos os animais, duas vezes por dia, ajustando-se diariamente a quantidade em função do peso vivo dos leitões e do alimento refugado.

Quadro 6. Composição (g/kg) dos regimes experimentais

	RB	Sêmea	DNL	DL
Trigo	700	550	550	550
Sêmea de trigo	0	150	0	0
Dreche não lavado	0	0	150	0
Dreche lavado	0	0	0	150
Bagaço de soja 48	100	100	100	100
Soro de leite doce	55	50	50	50
Farinha de peixe 70	100	100	100	100
Óleo de soja	30	30	30	30
L-Lisina	2	2	2	2
Carbonato de cálcio	6	8	6	6
Fosfato bicálcico	5	3	5	5
Cloreto de sódio	2	2	2	2
CMV ^a	5	5	5	5

^a Complexo mineral e vitamínico**Quadro 6.1.** Composição do complexo mineral e vitamínico por kg de alimento

Vitaminas		Minerais (mg)	
A (Rétinol) ¹	25000	Fe (Carbonato ferroso ^a)	120
D3 (Colecalciferol) ¹	2000	Cu (Sulfato cúprico)	160
E (Alfatocoferol) ¹	0,120	Mn (Óxido de manganês)	50
C (Ácido ascórbico) ¹	0,200	Zn (Óxido de zinco)	140
K3 (Menadiona) ²	1	I (Iodeto de potássio)	1
B1 (Tiamina) ²	1,5	Co (carbonato básico de Co)	0,500
B2 (Riboflavina) ²	5	Se (Selenito de sódio)	0,300
B3 (PP ou Niacina) ²	30		
B5 (Ácido pantoténico) ²	15		
B6 (Piridoxina) ²	2,5		
B9 (Ácido fólico) ²	0,500		
B12 (Cianocobalamina) ²	0,030		
H-12 (Biotina) ²	80		
Colina (Cloreto colina) ³	0,300		

^a Principio activo; ¹ UI;² miligramas; ³ gramas**Quadro 7.** Composição química dos regimes experimentais

	MS (%)	Cinza (%MS)	PB (%MS)	NDF (%MS)	ADF (%MS)	ADL (%MS)
RB	89,24	5,55	23,37	11,35	2,44	0,90
Sêmea	89,38	5,95	23,68	15,51	4,08	1,33
DNL	85,47	5,89	24,82	16,56	4,38	1,30
DL	85,28	5,82	24,76	17,38	3,37	1,55

3.3- Preparação das amostras das fezes e dos regimes experimentais.

Os regimes experimentais foram previamente moídos num moinho Retch com um crivo de 1mm de diâmetro. Por seu turno, após cada período de recolhas, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas e colocadas num tabuleiro de alumínio com registo do peso fresco. As amostras foram em seguida colocadas numa estufa à temperatura de 70°C, durante 48 horas. Após a secagem, procedeu-se a nova pesagem, obtendo-se o peso das fezes secas. As fezes foram então moídas, utilizando-se um moinho Retch com crivo de 1mm e colocadas em frascos de vidro identificados até análise.

Para análise das urinas, preparou-se amostras homogêneas por cada período de recolha, que foram colocadas em frascos e conservadas a -20°C até análise.

3.4- Determinações analíticas

Todas as determinações analíticas do presente trabalho foram realizadas no laboratório Professor Pais de Azevedo, afecto ao Departamento de Produção Agrícola e Animal, do Instituto Superior de Agronomia.

3.4.1- Determinações analíticas gerais.

Sobre as amostras dos regimes experimentais e das fezes, realizaram-se em duplicado as seguintes análises:

- Matéria seca residual (MS): secagem em estufa (103-105°C) de 2g de amostra, até peso constante, sendo expresso em percentagem da massa da amostra.

$$\text{M.S. (\%)} = \left(\frac{m_2}{m_1} \right) \times 100$$

onde: m1= gramas de amostra antes da secagem.

m2= gramas de amostra após secagem.

- Cinza: incineração completa da amostra anterior em mufla a 550°C.

$$\text{Cinza (\% M.S.)} = \left(\frac{m_2}{m_1} \right) \times 100$$

onde: m1 = gramas de amostra antes da incineração.

m2 = gramas de amostra após incineração.

- Fibra neutro-detergente (NDF), fibra ácido-detergente (ADF) e lenhina ácido-detergente (ADL): pelo método de Van Soest *et al.* (1991) utilizando o sistema Fibertec (Tecator, Suécia).

- Celulose e hemicelulose: foram calculadas por diferença entre ADF/ADL e NDF/ADF, respectivamente.
- Azoto: pelo método Kjeldahl para doseamento do azoto total. Utilizou-se o sistema de digestão 1015 Digester Tecator (Tecator, Suécia) e a unidade de destilação 1026 Tecator (Tecator, Suécia), com posterior titulação manual.

$$\text{Azoto (\%)} = \left(\frac{(v1-v2) \times N \times 14,007 \times 10^{-3}}{m} \right) \times 100$$

Onde: v1= volume de ácido clorídrico consumido na titulação da amostra

v2= volume de ácido clorídrico consumido na titulação do ensaio em branco

N= normalidade da solução de ácido clorídrico utilizada

m= gramas de amostra

A proteína bruta foi calculada multiplicando o valor de azoto (%) por 6,25, assumindo-se que toda a proteína contém 16% de azoto. Para além dos regimes alimentares e das fezes, foi também calculada nas amostras de urina.

Analizou-se também a quantidade de açúcares livres no dreche de cerveja não lavado e no dreche de cerveja lavado, obtendo-se resultados residuais.

3.4.2- Determinação dos ácidos gordos voláteis.

Os AGV foram doseados pelo método de Jouany (1982), nos conteúdos do intestino delgado, ceco e cólon. Ao abate recolheram-se cerca de 20g de amostra dos conteúdos para frascos identificados, onde se tinha previamente adicionado 2ml de ácido ortofosfórico (0,03M). Os frascos foram depois vedados e armazenados a -20°C.

Posteriormente, as amostras foram descongeladas e centrifugadas (Beckman J2-Hs) a 5000 r.p.m durante 10 minutos. Retirou-se, em duplicado, 1ml do sobrenadante para tubos de eppendorf e adicionou-se 1ml de ácido metil valérico a 1% (p/v). Antes da injeção no cromatógrafo a mistura foi homogeneizada. A temperatura no injector e no detector foi programada para 120°C. Já a temperatura do forno manteve-se durante os 7 minutos iniciais a 120°C, aumentando depois 10°C por minuto até se atingir 170°C. O gás de arraste utilizado foi o Hidrogénio e a quantidade de amostra injectada foi de 0,3 µl.

A separação e identificação dos ácidos gordos voláteis foram efectuadas por cromatografia em fase gasosa, numa aparelho Perkin-Helmer (sigma 3) equipado com uma coluna capilar Chromopack 7486, utilizando-se como padrão interno o ácido metil valérico.

3.4.3- Análise da actividade enzimática microbiana

Logo após o abate, foram colocados cerca de 4g de conteúdo do ceco e do cólon em frascos identificados, contendo 10ml de uma solução tampão fosfato (pH6), que depois foram vedados e armazenados a -20°C. Posteriormente a amostra foi sujeita a dois ciclos de congelação-descongelação lenta (a menos de 4°C), para fragilizar as células microbianas e facilitar a sua ruptura impedindo, simultaneamente, a acção das proteases.

O passo seguinte consistiu na sonicação (sonicador Bandelin Sonoplus) em 4 períodos de 30 segundos intercalados com igual período de repouso, mantendo a amostra em gelo. Depois, a amostra foi centrifugada a 12000 r.p.m durante 12 minutos a -4°C (Jehl *et al.*, 1996). O material celular resultante do extracto enzimático ficou no sobrenadante que foi então recolhido em triplicado para tubos de eppendorf (1,5 ml) e conservado a -20°C.

A determinação da actividade xilanolítica, celulolítica e pectinolítica decorreu segundo o método de Jehl *et al.* (1996), com algumas alterações. As reacções decorreram em tubos de ensaio, contendo 5ml do respectivo substrato (Xilana Sigma X-0502, Carboximetilcelulose Sigma C-5678 ou Pectina de citrinos Sigma P-9135) e 1,5ml de solução tampão fosfato (pH6), em banho-maria (39°C). Nos tempos de incubação estudados (0, 30 e 60 minutos), pipetaram-se 700µl do conteúdo dos tubos de ensaio para eppendorfs onde igual volume de DNSA (3.5 ácido-dinitrosalicílico) cessou a reacção enzimática

Em seguida, os tubos de eppendorf foram colocados num banho de 100°C, durante 20 minutos, com posterior arrefecimento, para que os açúcares redutores libertados adquirissem cor e podessem ser doseados por espectrofotometria de acordo com o método de Miller (1959). A quantificação foi feita num espectrofotómetro (Model 2001, Hiatchi, Japão) comparando-se o conteúdo dos eppendorfs, obtido por valores de absorvância a 575nm, com o da curva padrão feita para cada série de amostras.

3.5- Análise histológica do epitélio intestinal

Estas análises foram realizadas no Departamento de Morfologia e Função da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa. Após o esvaziamento do conteúdo e medição do comprimento intestinal, recolheram-se amostras do duodeno (a cerca de 10cm abaixo do piloro), jejuno (aproximadamente a 5,5m abaixo do piloro) e íleo (a cerca de 60cm da válvula íleo-cecal), que foram fixadas em formol tamponado, para observação em microscopia óptica. Prepararam-se cortes histológicos de 7µm corados com hematoxilina-eosina e observaram-se as lâminas ao microscópio (Olympus BX511), com uma objectiva de 10x. Foram captadas imagens por uma câmara digital (Olympus DP 11) ligada a um computador. Posteriormente através do software Olympus DP Soft, calculou-se a altura e largura de dez vilosidades e a profundidade de 10 criptas (íntegras e bem orientadas), por segmento intestinal e por animal.

3.6- Parâmetros estudados

3.6.1- Através do controlo do peso dos animais e da ingestão de alimento, calculada através da diferença entre a quantidade fornecida e refugada, foram calculados:

- Ganho médio diário (GMD): quociente entre o ganho de peso e o número de dias que medeiam duas pesagens.

$$\text{GMD} = \frac{\text{Ganho de Peso (g)}}{\text{Intervalo de Tempo (dias)}}$$

- Índice de conversão alimentar (IC): quantidade de alimento necessária para que o peso vivo aumente um kilograma.

$$\text{IC} = \frac{\text{Alimento Ingerido (kg) em x dias}}{\text{Ganho de Peso (kg) em x dias}}$$

3.6.2- Balanço Azotado

- Coeficiente de utilização prático do azoto (CUPN): exprime o azoto retido em percentagem de azoto ingerido.

$$\text{CUPN (\%)} = \left(\frac{(\text{N ing} - \text{N exc. fezes} - \text{N exc. urina})}{\text{N ing}} \right) \times 100$$

- Coeficiente de retenção azotada (CRN): exprime o azoto retido em percentagem do azoto absorvido.

$$\text{CRN (\%)} = \left(\frac{(\text{N ing} - \text{N exc. fezes} - \text{N exc. urina})}{(\text{N ing} - \text{N exc. fezes})} \right) \times 100$$

3.6.3- Digestibilidade fecal aparente

A digestibilidade fecal aparente é definida como a percentagem de nutriente ingerida não excretada nas fezes, ou seja, é assumida como absorvida pelo animal. Foi calculada para a matéria seca (MS), cinza (Cz), proteína bruta (PB) e fibras (NDF, ADF, ADL, HC, CL), pela seguinte formula:

$$\text{CUDap (\%)} = \left(\frac{(\text{ing.} - \text{exc. fezes})}{\text{ing.}} \right) \times 100$$

3.6.4- Medição do pH dos conteúdos

O pH dos conteúdos do estômago, intestino delgado, ceco e cólon foi directamente medido após homogeneização das amostras, utilizando-se o aparelho WTW pH 522.

3.6.5- Consistência das fezes

Durante as duas semanas experimentais recolheu-se diariamente as fezes e avaliou-se a sua consistência segundo o índice de consistência fecal proposto por Marquardt *et al.* (1999), atribuindo-se notas de 0 a 3:

- Consistência 0: fezes normais
- Consistência 1: fezes moles
- Consistência 2: diarreia moderada
- Consistência 3: diarreia severa

3.7- Análise estatística

Os resultados da consistência das fezes, digestibilidade fecal aparente e balanço azotado foram comparados por análise de variância considerando-se medidas repetidas no tempo, através do procedimento MIXED do programa SAS (1991), de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Onde: μ = média central

α_i = efeito do tratamento i

β_j = efeito do período j

$\alpha_i \beta_j$ = efeito da interacção do tratamento i com o período j

ε_{ij} = erro residual

Os resultados sobre o crescimento dos leitões, desenvolvimento do tubo digestivo, actividade fermentativa e morfologia intestinal, foram comparados por análise de variância considerando-se o regime como factor de variação de acordo com um esquema em blocos completos. Esta análise foi realizada pelo procedimento GLM do programa SAS. Finalmente, as médias foram comparadas pelo método dos contrastes, utilizando-se as seguintes comparações:

- Contraste S: efeito da sêmea de trigo (regime 1 vs regime 2)
- Contraste D: efeito do dreche de cerveja (regime 1 vs regime 3 + regime 4)
- Contraste S vs D: efeito da natureza da fibra (regime 2 vs regime 3 + regime 4)
- Contraste L: efeito da lavagem do dreche (regime 3 vs regime 4).

IV – Resultados

4.1- Performances zootécnicas dos leitões

Os resultados sobre as performances zootécnicas dos leitões ao longo de todo o período experimental são apresentados no **Quadro 8**.

O peso inicial e final dos leitões foram, respectivamente, em média de 7,18kg e de 11,05kg ($P > 0,05$). A composição dos regimes experimentais não afectou significativamente o crescimento dos leitões, assim o aumento de peso diário foi em média de 277g para uma ingestão de alimento de 425g/dia.

4.2- Digestibilidade fecal aparente e consistência das fezes

Comparativamente ao regime base, a utilização de sêmea de trigo na alimentação do leitão recém desmamado reduziu significativamente a digestibilidade fecal aparente da matéria seca, dos minerais e da proteína (PB), respectivamente em cerca de 5, 12 e 6 pontos percentuais (**Quadro 9**).

A utilização do dreche como fonte de fibra no regime de desmame reduziu em cerca de 3 pontos percentuais a digestibilidade da matéria seca relativamente ao controlo negativo (RB), mas não teve efeito significativo ($P > 0,05$) sobre a digestibilidade da PB, e das fracções NDF e ADF.

Comparando as duas fontes de fibra (sêmea ou dreche de cerveja) os resultados mostram uma maior digestibilidade da MS dos regimes com a incorporação do dreche de cerveja, diferença que se cifrou em 2,2 pontos percentuais. Esta diferença justifica-se por uma maior digestibilidade das fracções mineral e proteica nos regimes com dreches. Pelo contrário, o processo de lavagem dos dreches não teve efeito significativo ($P > 0,05$) sobre as principais fracções do regime alimentar dos leitões.

Os resultados sobre a consistência das fezes dos leitões são igualmente apresentados no **Quadro 9**. De acordo com o método utilizado, um valor mais alto traduz uma menor consistência fecal. Assim, a inclusão de dreches no regime de desmame aumentou significativamente a consistência das fezes dos leitões relativamente aos regimes base e sêmea. Pelo contrário a consistência das fezes não variou significativamente com a lavagem do dreche.

Analisando o efeito da idade dos leitões na digestibilidade do regime, verificamos uma tendência para uma maior utilização digestiva da proteína bruta no segundo período experimental (P2), mas o contrário acontece em relação à degradação digestiva dos constituintes parietais do regime. Finalmente, a consistência das fezes foi menor no segundo período experimental, com valores de 1,39 e 1,60 nos períodos 1 e 2, respectivamente ($P < 0,05$).

Quadro 8. Efeito da fonte de fibra e da lavagem do dreche no crescimento dos leitões ao longo de todo o período experimental.

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL	S	D	S vs D	L	STD ³
PI (kg) ²	7,21	7,16	7,17	7,16	0,9390	0,9864	0,9431	0,7914	0,800
PF (kg) ²	10,86	11,06	11,31	11,31	0,8877	0,789	0,6672	0,9517	1,420
Ingestão (g/d)	401	428	448	448	0,5494	0,1676	0,4753	0,8536	90
GMD (g)	260	279	296	273	0,7564	0,6692	0,4349	0,8530	79
IC	1,61	1,56	1,55	1,60	0,3032	0,6798	0,4325	0,4412	0,21

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² PI: peso inicial; PF: peso final.

³ Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea);

D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche);

L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.

Quadro 9. Efeito da fonte de fibra e da lavagem do dreche na consistência das fezes e na digestibilidade fecal aparente (%).

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	P1	P2	S	D	S vs D	L	P	STD ³
Fezes ²	1,790	1,730	1,160	1,310	1,390	1,600	0,8178	0,0253	0,0454	0,5812	0,0463	1,040
CUD MS	89,5	84,5	87,2	86,2	87,0	86,7	0,0003	0,0108	0,0493	0,3958	0,5456	3,3
CUD Cz	74,5	62,9	72,1	68,3	69,9	69,0	0,0001	0,0644	0,0034	0,1621	0,5015	7,6
CUD PB	86,7	80,4	86,2	84,5	83,7	85,3	0,0001	0,2447	0,0005	0,2656	0,0503	4,5
CUD NDF	68,0	71,1	70,3	74,0	73,2	68,5	0,4479	0,2420	0,7616	0,3677	0,0031	9,2
CUD ADF	31,5	48,3	48,8	38,3	47,4	36,1	0,0465	0,0958	0,5011	0,2005	0,0009	2,0
CUD HC	78,0	79,2	78,0	82,5	80,8	78,1	0,6689	0,3542	0,6612	0,1207	0,011	6,5
CUD CEL	23,9	46,0	50,3	20,8	41,6	28,9	0,0343	0,1855	0,2355	0,0059	0,0014	25,9

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Índice de consistência das fezes; CUD: coeficiente de utilização digestiva; MS: matéria seca; Cz: cinza; PB: proteína bruta; NDF: fibra neutro-detergente; ADF: fibra ácido-detergente; HC: hemiceluloses; CEL: celulose

³ Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea); D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches);

S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche); L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão;

P1 e P2: período experimental 1 e 2, respectivamente.

4.3- Actividade fermentativa no ceco e cólon

4.3.1- Actividade total ou específica das enzimas digestivas microbianas

Os resultados da actividade total das enzimas digestivas microbianas (**Celulase**, **Xilanase**, **Pectinase**) expressos em mg/g de MS de conteúdo, encontram-se referidos no **Quadro 10**.

O aumento do teor de constituintes parietais do regime de desmame pela inclusão de sêmea de trigo ou de dreche de cerveja, não afectou significativamente a actividade total das enzimas microbianas nos conteúdos do ceco.

Pelo contrário, no cólon a inclusão de sêmea de trigo ao regime base reduziu respectivamente cerca de 25% e 35% a actividade total da xilanase e da pectinase. Nos regimes em que o dreche de cerveja foi a principal fonte de fibra, a actividade total da celulase, xilanase e pectinase no cólon foi reduzida em mais de 30%.

Os resultados sobre a actividade específica das enzimas digestivas microbianas (**Quadro 11**), mostram que o aumento do teor de PNA no regime dos leitões não afectou significativamente a actividade específica da celulase, xilanase e pectinase, quer nos conteúdos do ceco quer nos conteúdos do cólon. Contudo, a substituição da sêmea de trigo por dreches lavados ou não lavados, reduziu a actividade específica da celulase no ceco.

Finalmente, o processo de lavagem dos dreches não teve efeito significativo sobre a actividade total ou específica das enzimas microbianas.

Quadro 10. Efeito da fonte de fibra e da lavagem do dreche na actividade total das enzimas digestivas microbianas (mg/g MS conteúdo).

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	S	D	S vs D	L	DPR ²
Celulase									
Ceco	3,29	2,15	1,50	2,20	0,3170	0,1555	0,7473	0,5204	2,13
Cólon	3,02	1,98	2,16	1,74	0,1003	0,0559	0,9427	0,4674	1,15
Xilanase									
Ceco	4,47	3,52	2,55	3,24	0,4849	0,1956	0,5807	0,5964	2,56
Cólon	7,42	5,51	5,77	3,90	0,0837	0,0109	0,4443	0,0774	2,01
Pectinase									
Ceco	10,08	5,39	6,10	6,74	0,1157	0,1600	0,6658	0,8189	5,45
Cólon	6,96	4,41	5,12	4,35	0,0154	0,0158	0,6903	0,4101	1,83

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea); D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche); L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). DPR: desvio padrão residual.

Quadro 11. Efeito da fonte de fibra e da lavagem do dreche na actividade específica das enzimas digestivas microbianas (mg/ml de extracto).

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	S	D	S vs D	L	DPR ²
Celulase									
Ceco	1,50	2,25	1,06	1,82	0,1085	0,8844	0,0408	0,0914	0,85
Cólon	2,82	3,02	2,83	2,64	0,6609	0,8474	0,4649	0,6815	0,88
Xilanase									
Ceco	2,32	3,20	1,84	2,89	0,2455	0,9400	0,1874	0,1522	1,41
Cólon	7,92	8,30	7,45	6,17	0,7456	0,2881	0,1354	0,2596	2,21
Pectinase									
Ceco	4,77	4,90	4,21	5,25	0,8466	0,9507	0,7647	0,1293	1,32
Cólon	6,58	6,84	6,70	6,55	0,7309	0,9515	0,7255	0,8311	1,38

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea); D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche); L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). DPR: desvio padrão residual

4.4 - Concentração de ácidos gordos voláteis

a) Intestino delgado

No **Quadro 12** estão descritos os resultados obtidos sobre a concentração de ácidos gordos voláteis (**AGV**), nomeadamente acetato (**C2**), propionato (**C3**) e butirato (**C4**), e suas proporções molares no intestino delgado.

Constatou-se uma tendência ($P= 0,0968$) para que o regime sêmea de trigo diminua a concentração de butirato, efeito que atinge o nível da significação estatística ($P= 0,0452$) quando o dreche foi a principal fonte de fibra. Quando se comparou o efeito da sêmea com o dreche, verificou-se uma tendência ($P= 0,0684$) para uma menor concentração de propionato nos regimes dreche.

Em termos de proporção molar, a sêmea de trigo induziu um aumento significativo na proporção molar de propionato em relação ao total dos AGV analisados. Comparando-se a sêmea de trigo com os dreches de cerveja, a proporção de acetato aumentou e a proporção molar de propionato diminuiu nos regimes com o dreche incorporado.

b) Ceco

A sêmea de trigo aumentou significativamente ($P= 0,0395$) a concentração de AGV nos conteúdos do ceco, comparativamente ao regime base. Em termos numéricos este aumento teve maior expressão para o acetato (C2) mas o efeito foi mais significativo para o butirato. No caso do dreche, os resultados inesperadamente baixos obtidos com o dreche lavado, impossibilitaram um efeito significativo desta fonte de fibra sobre a concentração de

AGV no ceco. Contudo o regime com DNL apresentou concentrações de AGV numericamente equivalentes ao regime sênea. A lavagem do dreche induziu uma redução na concentração de butirato, mas não teve efeito significativo ($P > 0,05$) relativamente às concentrações de acetato e de propionato. Finalmente, o teor de fibra, a natureza da fibra e o processo de lavagem do dreche, não tiveram efeito significativo sobre a proporção molar dos AGV doseados (**Quadro 13**).

c) Cólon

A concentração total de AGV no cólon foi em média de 164mmol/l com uma proporção molar de C2, C3 e C4 de 0,62; 0,22 e 0,17, respectivamente. A concentração e a proporção molar de AGV no cólon foram independentes do teor de fibra, da fonte de fibra e do processo de lavagem do dreche (**Quadro 14**).

Quadro 12. Efeito da fonte de fibra no regime dos leitões e da lavagem do dreche na concentração e proporção molar de ácidos gordos voláteis (AGV) no conteúdo do intestino delgado.

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	S	D	S vs D	L	STD ²
AGV (mmol/l)									
C2	28,6	17,2	17,3	22,2	0,1208	0,1669	0,6879	0,5116	13,7
C3	8,5	10,1	4,5	5,6	0,5814	0,2119	0,0684	0,7400	6,4
C4	5,7	3,5	2,8	3,7	0,0968	0,0452	0,8785	0,5064	2,7
Total	42,8	30,8	24,7	31,5	0,2453	0,1110	0,7621	0,5186	20,3
Proporções molares									
C2:C3	3,32	2,23	3,91	4,51	0,1629	0,1946	0,0073	0,4521	1,59
C2:C4	5,48	4,73	6,35	6,39	0,5467	0,4193	0,1438	0,9728	2,35
C2:total	0,65	0,57	0,67	0,70	0,1285	0,4919	0,0211	0,5807	0,10
C3:total	0,21	0,29	0,21	0,16	0,0433	0,3835	0,0032	0,2089	0,08
C4:total	0,13	0,14	0,12	0,14	0,8656	0,9817	0,8654	0,4956	0,06

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea);

D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche);

L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.

C2, C3, C4: acetato, propionato e butirato, respectivamente.

Quadro 13. Efeito da fonte de fibra no regime dos leitões e da lavagem do dreche na concentração e proporção molar de ácidos gordos voláteis (AGV) no conteúdo do ceco.

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	S	D	S vs D	L	STD ²
AGV (mmol/l)									
C2	81,2	110,6	112,1	89,1	0,0878	0,1872	0,4891	0,1753	32,4
C3	30,0	42,3	36,7	27,6	0,0572	0,6872	0,0692	0,1533	13,1
C4	18,0	28,5	24,1	17,5	0,0033	0,3165	0,0105	0,0471	8,6
Total	129,2	181,4	173,0	134,2	0,0395	0,2501	0,1906	0,1179	50,4
Proporções molares									
C2:C3	3,17	2,65	3,07	3,30	0,1597	0,9565	0,0967	0,5243	0,71
C2:C4	4,91	4,38	4,71	5,13	0,4976	0,9820	0,4214	0,5871	1,69
C2:total	0,63	0,61	0,65	0,66	0,6200	0,2359	0,0860	0,5524	0,05
C3:total	0,22	0,24	0,21	0,21	0,3094	0,7385	0,1382	0,6533	0,04
C4:total	0,16	0,15	0,14	0,14	0,8443	0,4146	0,5532	0,8829	0,05

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea);

D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche);

L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.

C2, C3, C4: acetato, propionato e butirato, respectivamente.

Quadro 14. Efeito da fonte de fibra no regime dos leitões e da lavagem do dreche na concentração e proporção molar de ácidos gordos voláteis (AGV) no conteúdo do cólon.

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	S	D	S vs D	L	STD ²
AGV (mmol/l)									
C2	102,4	115,1	90,3	100,8	0,4483	0,6404	0,1910	0,5480	38,4
C3	35,6	38,0	32,1	36,4	0,6873	0,7995	0,4789	0,5049	12,7
C4	27,9	28,4	24,6	25,3	0,9036	0,3896	0,3204	0,8689	9,4
Total	165,9	181,5	147,0	162,5	0,5441	0,6213	0,2429	0,5665	58,5
Proporções molares									
C2:C3	2,98	3,02	2,82	2,84	0,8546	0,4194	0,3128	0,9201	0,49
C2:C4	3,88	3,99	3,70	3,95	0,7416	0,8525	0,5761	0,466	0,64
C2:total	0,62	0,63	0,61	0,62	0,6998	0,6994	0,4128	0,7021	0,03
C3:total	0,21	0,21	0,22	0,23	0,9013	0,3997	0,3277	0,4761	0,02
C4:total	0,17	0,16	0,17	0,16	0,6609	0,6519	0,9620	0,3375	0,02

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea); D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche); L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.
C2, C3, C4: acetato, propionato e butirato, respectivamente

4.5- Conteúdos do tubo digestivo: pH e matéria seca

Os valores do pH e dos teores de matéria seca dos conteúdos do tubo digestivo (estômago, intestino delgado, ceco e cólon), encontram-se no **Quadro 15**.

O valor de pH no estômago dos leitões que receberam o dreche não lavado foi inesperadamente elevado, justificando o efeito significativo da lavagem sobre estes valores. A utilização do dreche de cerveja como fonte de fibra aumentou o valor de pH no ID relativamente ao regime base ($P= 0,0256$) e ao regime com sêmea de trigo ($P= 0,0430$). Considerando os conteúdos do ceco e do cólon, verificou-se que o processo de lavagem dos dreches aumentou o seu pH, com efeito mais acentuado nos conteúdos cecais.

Os teores de MS dos conteúdos do tubo digestivo foram independentes ($P> 0,05$) das fontes de fibra e do processo de lavagem do dreche.

4.6- Desenvolvimento do tubo digestivo

Os resultados sobre o desenvolvimento relativo do tubo digestivo (g/kg peso vivo) dos leitões ao abate encontram-se no **Quadro 16**.

Não houve quaisquer resultados significativos nos parâmetros estudados, com excepção do peso do pâncreas. O peso deste órgão é aumentado de forma significativa ($P< 0,05$) quando os dreches foram incorporados ao regime, com realce para o aumento que se regista no dreche lavado em comparação com o dreche não lavado. No caso da sêmea de trigo verifica-se uma tendência para um maior peso relativo do pâncreas.

4.7- Morfologia da mucosa intestinal

Estudou-se a morfologia da mucosa intestinal através da altura das vilosidades, largura das vilosidades e profundidade das criptas, no duodeno, jejuno e íleo (**Quadro 17**).

Em relação ao regime base, a fibra da sêmea de trigo parece estimular ($P= 0,0813$) a altura das vilosidades no jejuno e aumenta de forma significativa a razão entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas no íleo. O efeito dos dreches de cerveja comparativamente ao regime base, mostra maiores diferenças. No duodeno os dreches aumentaram a largura das vilosidades ($P< 0,05$) e a profundidade das criptas ($P= 0,0592$). No jejuno registaram-se aumentos significativos em todos os parâmetros estudados, (altura e largura das vilosidade e profundidade das criptas). No íleo, voltam a existir efeitos significativos no aumento da altura das vilosidades e na profundidade das criptas.

Quando se compara o efeito da sêmea com o dreche, nota-se que no jejuno há aumentos significativos na largura das vilosidades e na profundidade das criptas e no íleo da profundidade das criptas, aquando da incorporação de dreches de cerveja. Finalmente, o facto dos dreches serem ou não lavados não produziu qualquer efeito significativo na morfologia da mucosa intestinal.

Quadro 15. Efeito da fonte de fibra do regime e da lavagem do dreche no pH e na matéria seca (MS) dos conteúdos do tubo digestivo dos leitões.

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	S	D	S vs D	L	STD ²
pH									
Estômago	2,47	2,49	4,12	2,53	0,9734	0,1551	0,1658	0,0266	1,50
ID	6,82	6,85	7,07	6,98	0,8307	0,0256	0,0430	0,3633	0,20
Ceco	6,15	6,00	5,99	6,38	0,3708	0,8308	0,2172	0,0284	0,33
Cólon	6,30	6,34	6,27	6,51	0,7696	0,4915	0,7041	0,0873	0,29
MS									
ID	4,35	6,97	4,74	4,38	0,1109	0,8766	0,0922	0,8219	3,24
Ceco	9,55	9,48	8,86	8,67	0,9612	0,5529	0,5677	0,8930	2,62
Cólon	15,80	16,10	16,78	16,78	0,8351	0,6746	0,8454	0,5144	2,86

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea); D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dresches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche); L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.

Quadro 16. Efeito da fonte de fibra no regime e da lavagem do dreche no desenvolvimento do tubo digestivo (g/kg peso vivo) dos leitões.

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	S	D	S vs D	L	STD ²
Peso vivo (kg)	11,09	11,08	11,25	11,24	0,9922	0,7745	0,7659	0,9922	1,53
Estomago									
Cheio	17,2	17,7	17,3	21	0,893	0,5164	0,6203	0,3003	6,9
Vazio	9,3	9,6	9,4	9,7	0,491	0,5757	0,812	0,5466	1,0
ID³									
Cheio	75,8	73,5	70,0	74,6	0,6615	0,4479	0,797	0,3924	10,2
Vazio	53,7	56,7	53	55,2	0,493	0,9278	0,4831	0,6067	7,9
Comprimento (m/kg)	1,22	1,21	1,12	1,18	0,7686	0,1721	0,297	0,2899	0,16
IG³									
Cheio	43,9	48,0	50,8	44,3	0,3103	0,293	0,9042	0,1124	8,6
Vazio	19,9	20,0	20,7	20,1	0,9935	0,6807	0,6875	0,6646	2,7
Comprimento (m/kg)	0,21	0,20	0,20	0,19	0,7274	0,487	0,7533	0,4298	0,03
Pâncreas	2,47	2,75	2,57	2,92	0,06	0,0339	0,9802	0,0223	0,31
Fígado	29,4	29,9	29,7	29,0	0,7784	0,9892	0,7352	0,6829	4,2
Vesícula	1,17	1,08	1,11	1,23	0,6632	0,9945	0,6105	0,5516	0,39
Baço	2,68	2,89	3,20	2,93	0,5329	0,1932	0,5469	0,4178	0,72

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea); D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dresches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche); L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.

³ ID: intestino delgado; IG: intestino grosso

Quadro 17. Efeito da fonte de fibra no regime alimentar e da lavagem do dreche na morfologia da mucosa intestinal (μm) dos leitões.

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	S	D	S vs D	L	STD ²
Duodeno									
Altura das vilosidades (a)	254,3	264,7	291,5	290,9	0,7032	0,1288	0,2691	0,9825	55,2
Largura das vilosidades	155,1	171,1	174,9	183,3	0,2342	0,0457	0,4859	0,5219	27,5
Profundidade das criptas (b)	410,7	423,7	447,8	471,2	0,6394	0,0592	0,1630	0,4228	79,4
a/b	0,619	0,625	0,651	0,617	0,8573	0,8863	0,9484	0,5678	0,114
Jejuno									
Altura das vilosidades (a)	262,9	310,7	334,2	323,3	0,0813	0,0083	0,4323	0,6812	62,5
Largura das vilosidades	132,8	127,2	144,1	149,2	0,4462	0,0385	0,0054	0,4892	18,6
Profundidade das criptas (b)	310,6	299,2	378,5	348,5	0,5848	0,0070	0,0016	0,1565	53,9
a/b	0,846	1,038	0,883	0,928	0,4831	0,9541	0,3874	0,1996	0,198
Íleo									
Altura das vilosidades (a)	220,8	241,6	246,6	279,8	0,3466	0,0343	0,2624	0,1400	49,8
Largura das vilosidades	147,0	141,5	146,6	158,8	0,5024	0,4197	0,1221	0,1445	18,5
Profundidade das criptas (b)	245,2	247,9	298,9	295,1	0,8768	0,0029	0,0044	0,8332	43,3
a/b	0,900	0,975	0,825	0,948	0,0192	0,3654	0,0583	0,7498	0,205

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea);

D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche);

L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.

4.8- Balanço azotado

A quantidade diária de azoto ingerida e de azoto retido foi independente da composição do regime dos leitões. Contudo, a eficiência de utilização do azoto absorvido foi modificada com a composição do regime. Assim, o azoto retido em percentagem de azoto absorvido (CRN) ou em percentagem de azoto ingerido (CUPN), foi reduzida em cerca de 8 e de 12 pontos percentuais, com a sêmea de trigo. Comparando com os regimes dreche, a sêmea de trigo reduziu em 8 pontos percentuais o coeficiente de utilização prático de azoto ($P= 0,0030$).

A lavagem do dreche afectou os valores de CRN e de CUPN, com uma redução destes parâmetros em 6 e 12 pontos percentuais, respectivamente. Finalmente, todos os parâmetros referentes ao balanço azotado foram melhorados no segundo período experimental (**Quadro 18**).

Quadro 18. Efeito da fonte de fibra no regime e da lavagem do dreche no balanço azotado dos leitões

	RB ¹	Sêmea ¹	DNL ¹	DL ¹	P1	P2	S	D	S vs D	L	P	STD ²
N ingerido												
g/dia	13,4	14,0	14,6	14,5	10,8	17,5	0,7572	0,4552	0,6945	0,9209	<0,0001	4,8
g/dia/kg ^{0,75}	2,60	2,74	2,79	2,79	2,28	3,18	0,6209	0,4366	0,8337	0,9927	<0,0001	0,73
N retido												
g/dia	10,3	9,1	11,2	10,2	7,4	13,0	0,3566	0,7217	0,1604	0,4775	<0,0001	3,9
g/dia/kg ^{0,75}	2,00	1,79	2,13	1,96	1,57	2,36	0,3257	0,8050	0,1712	0,4265	<0,0001	0,61
CRN (%)	88,1	80,5	88,9	82,6	82,9	87,2	0,0426	0,4557	0,1008	0,0878	0,0599	10,1
CUPN (%)	76,5	64,7	76,6	69,9	69,5	74,4	0,0006	0,2250	0,0030	0,0370	0,0213	10,0

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea);

D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche);

L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.

V – Discussão dos resultados

5.1- Digestibilidade fecal aparente

É sabido que em leitões, aumentos do teor de fibra nos regimes têm efeitos negativos sobre a digestibilidade fecal aparente da matéria seca, da proteína (Stagonias e Pearce, 1985) e da fração mineral (Just, 1983). Neste ensaio a inclusão de sêmea de trigo confirmou o efeito negativo do enriquecimento dos regimes em fibra nas digestibilidades fecais aparentes. No entanto, verificou-se que o dreche de cerveja apenas influenciou $P(< 0,05)$ negativamente o CUD da MS.

A diminuição do CUD da MS está relacionada com uma menor degradação digestiva dos constituintes parietais, devido a uma redução do tempo de fermentação no ceco e cólon de fibras menos fermentescíveis, a um aumento da velocidade do trânsito digestivo (Dierick *et al.*, 1989), e a uma menor acessibilidade das enzimas digestivas aos seus substratos (Freire *et al.*, 2000). O facto da sêmea de trigo apresentar um CUD da CEL e da ADF mais elevado em relação ao regime base, estará relacionado com a maior quantidade desse constituinte na sêmea, mais fácil de dosear. Segundo Freire *et al.* (2000), a variação de digestibilidade entre as várias fontes de paredes celulares pode ser causada por diferentes quantidades de lenhina que se liga à celulose cristalina e às hemiceluloses, visto que aparentemente a lenhina não é degradada pelos suínos. O regime com dreche lavado teve uma redução inesperada da digestibilidade da celulose comparando com o dreche não lavado, cuja explicação plausível pode ser o arrastamento da celulose amorfa aumentando a proporção da estrutura cristalina, mais difícil de digerir. Contudo, comparando as diferentes fontes de fibra, não ocorrem diferenças significativas na digestibilidade fecal aparente dos constituintes fibrosos. A menor penalização do CUD da MS dos dreches comparativamente à sêmea poderá ser causada por um abrandamento da velocidade do trânsito digestivo, apesar de não ter sido um parâmetro estudado. Tal efeito será causado pelos β -glucanos, uma hemicelulose solúvel que forma soluções muito viscosas (Wood, 1986) e como tal, aumenta o tempo do trânsito intestinal (Knudsen e Hansen, 1991; Wenk, 2001). Como o dreche de cerveja é basicamente constituído pela casca, tegumento e pericarpo dos grãos de cevada (Mussato *et al.*, 2007) contém os seus PNA, o mesmo se passa com a sêmea em relação ao grão de trigo. No trigo as hemiceluloses predominantes são os arabinoxilanos, sendo que na cevada para além do teor em hemiceluloses ser mais elevado (**quadro 2**), predominam os β -glucanos e as galactoglucomananos (Theander *et al.*, 1989). Também os valores apresentados por Bach Knudsen (1997) indicam que a constituição de polissacáridos solúveis não celulósicos é de 56g/kg de MS para a cevada e de 25g/kg de MS para o trigo.

De acordo com Chabeauti (1991) e Freire *et al.* (2000), os suínos digerem melhor a hemicelulose relativamente à celulose, que é menos degradada ao nível fecal, o que se confirma pelos resultados expressos nos **quadros 9 e 19**. Seria então de esperar uma maior degradação fecal da hemicelulose nos regimes onde foi incorporado dreche de cerveja, até porque o seu teor nesses constituintes é mais elevado. Tal acontece de forma significativa somente para o regime DL, já que o resultado do regime DNL é equivalente ao da sêmea.

O aumento da digestibilidade fecal aparente com a idade dos leitões é um aspecto clássico (Aumaitre *et al.*, 1995), traduzindo a adaptação digestiva do leitão ao regime de desmame quer a nível morfológico, quer no aspecto enzimático. Contudo, neste trabalho registaram-se reduções no CUD dos constituintes parietais, do primeiro para o segundo período de recolha. Tais resultados são explicados pelo **quadro 19**, onde se constata que a degradação dos referidos constituintes da primeira para a segunda semana experimental é significativamente maior ($P < 0,05$), mas a sua ingestão aumenta de uma forma que supera a capacidade de degradação do próprio animal. A degradação do NDF, ADF e HC aumenta respectivamente em 15,9; 1,2 e 14,7 gramas por dia, excepção feita à celulose cujo aumento não atinge o patamar da significação estatística.

Teores elevados de fibra podem reduzir a disponibilidade dos minerais, diminuindo o CUD da Cz. O fenómeno é explicado por uma menor disponibilidade e absorção dos minerais (Wilfart *et al.* 2007), resultado de um trânsito digestivo acelerado com menor tempo para a absorção de nutrientes, provocado por fibras insolúveis, mas também por interacções da fibra com outros componentes como os fitatos, taninos ou oxalatos que dificultam a absorção mineral (Harland, 2006). A maior diminuição do CUD da Cz no regime sêmea em relação aos dreches, pode ser explicada pela maior actividade da fitase no trigo do que na cevada (Eeckhout e De Paepe, 1994). Provavelmente o processo de germinação e fermentação dos grãos de cevada durante o fabrico da cerveja, melhorou a disponibilidade da fracção mineral, especialmente dos que se encontravam no endosperma.

Finalmente, a redução do CUD da PB é explicada pelas razões anteriormente mencionadas para a diminuição do CUD da MS, mas também pelo aumento da excreção fecal de azoto, devido ao crescimento microbiano provocado pela fermentação intestinal da fibra (Mroz *et al.*, 1996) e devido a processos de erosão mecânica da superfície da mucosa e de aumento da síntese e migração das células epiteliais. Stagonias e Pearce (1985), sugeriram que a digestibilidade fecal aparente da proteína é mais afectada pelo teor de fibra do que pela sua natureza. Contudo, os resultados deste ensaio mostram que para níveis idênticos de constituintes parietais as duas fontes de fibra utilizadas mostram resultados díspares neste aspecto, dado que a digestibilidade fecal aparente da proteína, quando é incorporado ao regime dreche de cerveja, é significativamente maior em comparação com a sêmea de trigo. Tal facto pode ser resultado de um efeito menos abrasivo do dreche e da

diminuição da síntese e migração das células epiteliais. O resultado de um melhor CUD da PB com os dreches pode estar implicado numa melhoria da consistência das fezes nesses regimes. Apesar de neste ensaio não se ter estudado a digestibilidade íleal da proteína, tal facto supõe uma melhor capacidade digestiva com menos proteína no intestino grosso, reduzindo assim os produtos potencialmente perigosos da fermentação proteica (Montagne *et al.*, 2003), o que se traduz numa menor ocorrência de diarreias de origem alimentar. Ainda neste aspecto, ocorre uma melhoria natural da consistência das fezes da primeira para a segunda semana experimental devido à adaptação dos animais ao regime.

Quadro 19. Efeito da fonte de fibra no regime e da lavagem do dreche na quantidade diária ingerida e degradada de constituintes parietais.

	Ingestão (g/d)				Degradação (g/d)			
	NDF ³	ADF ³	HC ³	CEL ³	NDF	ADF	HC	CEL
RB ¹	40,6	8,7	31,9	5,5	31,0	4,5	26,6	2,8
Sêmea ¹	57,3	15,1	42,2	10,2	40,4	6,4	33,3	4,1
DNL ¹	60,6	16,0	44,6	11,3	37,0	3,5	32,5	1,4
DL ¹	62,9	12,2	51,0	6,6	44,6	5,1	40,0	2,0
P1	42,3	9,9	32,4	6,4	30,3	4,3	25,8	2,3
P2	68,4	16,1	52,3	10,4	46,2	5,5	40,5	2,8
S ²	0,0152	0,0003	0,0450	<0,0001	0,0311	0,0770	0,0730	0,1586
D ²	0,0007	0,0004	0,0009	0,001	0,0107	0,8001	0,0038	0,1900
S vs D ²	0,4269	0,4706	0,2091	0,1706	0,9096	0,0245	0,3232	0,0054
L ²	0,7222	0,0192	0,2218	<0,0001	0,0791	0,1395	0,0362	0,5281
P ²	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0116	<0,0001	0,1757
STD ²	20,2	5,2	15,5	3,8	12,7	2,6	11,4	2,2

¹ RB: regime base; Sêmea: sêmea de trigo; DNL: dreche não lavado; DL: dreche lavado.

² Probabilidade de significância do valor de F dos contrastes: S: regime 1 vs 2 (efeito fibra da sêmea); D: regime 1 vs 3+4 (efeito fibra dos dreches); S vs D: regime 2 vs 3+4 (comparação sêmea com dreche); L: regime 3 vs 4 (efeito lavagem do dreche). STD: Desvio padrão.

³ NDF: fibra neutro-detergente; ADF: fibra ácido-detergente; HC: hemicelulose; CEL: celulose.

5.2- Balanço Azotado

A inclusão de glúcidos parietais altera o balanço azotado, aumentando a desaminação microbiana do azoto no intestino grosso (Mroz *et al.*, 1996). Analisando os parâmetros CRN e CUPN constata-se que a sêmea de trigo faz diminuir significativamente estes valores, traduzindo-se num aumento da excreção de azoto, não ocorrendo efeitos significativos com o dreche de cerveja. A maior excreção urinária de azoto com a sêmea poderá traduzir uma maior produção de amoníaco no intestino grosso, o qual ao ser absorvido é eliminado na urina sob a forma de ureia (Ratcliffe, 1991). Constata-se também que os leitões que receberam o dreche de cerveja, em comparação com os alimentados com o regime sêmea, conseguem reter mais azoto em percentagem do azoto ingerido.

O aumento da retenção azotada e a melhoria do seu coeficiente de retenção e utilização prático com a idade é um fenómeno conhecido (Freire *et al.*, 2000), explicado pela maior ingestão de azoto da primeira para a segunda semana experimental e por uma maior capacidade para absorver e reter o azoto, o que é indicativo de síntese de tecido muscular.

5.3- Actividade fermentativa e produção de ácidos gordos voláteis

Na globalidade, os resultados mostram uma redução na actividade total das enzimas digestivas microbianas no ceco e cólon quando se aumentou o teor de glúcidos parietais do regime. Este efeito é significativo para a xilanase e pectinase no cólon. Tal resultado não seria expectável, pois a chegada de mais PNA ao intestino grosso com os regimes sêmea e dreche poderia servir de substrato fermentativo à população microbiana, aumentando a sua actividade. Sabe-se que as substâncias pécticas e os β -glucanos são digeridos no ceco e na zona proximal do cólon, os arabinoxilanos são degradados na zona média do cólon enquanto que a celulose o é na zona mais distal (Bach Knudsen *et al.*, 2008), devendo-se esses resultados reflectir em diferenças na actividade das bactérias xilanolíticas, pectinolíticas e celulolíticas (Freire *et al.*, 2003). Os resultados obtidos poderiam ser explicados pela resistência dos PNA dos cereais à degradação microbiana ou por uma aceleração do trânsito digestivo, mas as fontes de fibra utilizadas têm características distintas nestes aspectos, traduzidas pelos coeficientes de digestibilidade aparente, que à partida não explicam os resultados da actividade enzimática. Ocorreu um aumento da actividade específica da celulase na sêmea em relação ao dreche, apesar de não se terem registado aumentos significativos nos níveis de acetato (Bach Knudsen *et al.*, 2005), o que sugere uma maior absorção do acetato nos regimes com sêmea de trigo. No cólon, a actividade enzimática total da pectinase nos regimes sêmea e dreches foi inferior ao regime base, o que pode indicar uma menor fermentescibilidade dos substratos (Knudsen, 1991). Apesar disso, nesta porção final do trato gastrointestinal não houve alterações na concentração e proporção molar dos AGV, contrariamente aos resultados de Carneiro *et al.* (2008) que indicam uma maior actividade da xilanase e celulase em regimes com sêmea, e como tal os valores de pH também não se alteraram.

Como a absorção dos AGV é rápida, independente do pH e proporcional à sua concentração luminal (Engelhardt *et al.*, 1989), a sua medição *in vivo* é difícil (Anguita *et al.*, 2006) e as determinações fecais não podem ser directamente relacionadas com o que acontece *in vivo* (Cummings e Macfarlane, 1991). Portanto, uma concentração mais baixa não significa necessariamente uma menor produção de AGV's.

Como seria expectável, observou-se uma maior concentração de AGV ao nível do intestino grosso relativamente ao intestino delgado, dado que para além do trânsito digestivo ser mais demorado, a população microbiana responsável pelas fermentações é maior no

ceco e no cólon (Simpson *et al.*, 1999). Sabe-se que a população de *Lactobacillus* predomina no intestino delgado, levando a uma maior quantidade de ácido láctico produzido em relação aos AGV quantificados (Van der Klis e Jansman, 2002). A proporção molar de acetato em relação ao total de AGV quando se utiliza dreche em vez de sêmea é maior no intestino delgado, ocorrendo o inverso para a proporção molar de propionato, como sucede no trabalho de Carneiro *et al.* (2008). Tal pode indicar que o intestino delgado está também colonizado por bactérias produtoras de ácido acético, como as *Bifidobacterias* (Macfarlane *et al.*, 2007), que decorre da degradação de xilanas e pectinas (Wang *et al.* 2004), que assim parecem ocorrer em maior quantidade nos drenches de cerveja. Contudo, o pH do intestino delgado é significativamente mais elevado quando se incorporou os drenches de cerveja. Tal facto pode ser explicado por um maior poder tampão dos drenches de cerveja ou por um aumento do peso do pâncreas nesses regimes, com especial efeito do dreche lavado comparativamente ao não lavado. Um maior peso deste órgão remete para uma maior actividade, o que pode significar um esforço metabólico acrescido para o animal (Wenk *et al.*, 2001). Como o suco pancreático tem um cariz alcalino, ao ser misturado em grandes quantidades no intestino delgado vai neutralizar mais a acidez do material, proveniente do estômago. Segundo Freire *et al.* (1998) o aumento das secreções pancreáticas com a ingestão de glúcidos parietais, indica um efeito positivo da fibra na adaptação ao regime de desmame por parte do leitão.

Aumentos do teor de fibra, com excepção do dreche lavado, levaram a aumentos na quantidade de AGV produzidos no ceco. Tal efeito é normal dado que o ceco e o colón proximal, ao contribuírem com 92% da digestão distal dos hidratos de carbono são os locais por excelência da fermentação levada a cabo pela complexa flora microbiana (Bach Knudsen *et al.*, 1993). Há um claro aumento da degradação das hemiceluloses com o teor de fibra, se bem que a degradação da celulose apenas seja beneficiada com o regime sêmea (**quadro 19**). A não alteração das proporções molares justifica-se pela natureza semelhante do trigo e da cevada, são ambos cereais, e as diferenças que entre eles surgem (**quadro 2**) parecem não ser suficientes para levar a alterações neste aspecto. Seria então expectável que houvesse uma redução significativa do pH nos conteúdos do ceco. Segundo os resultados obtidos, o pH cecal quando se utilizou sêmea de trigo e dreche não lavado foi praticamente o mesmo, e menor do que o regime base embora não de forma significativa, tendo o dreche lavado provocado um aumento desse valor em comparação com o não lavado. Segundo a bibliografia, a produção de ácidos orgânicos e a redução do pH, aquando da fermentação de oligossacáridos no trato gastrointestinal dos leitões, pode prevenir o estabelecimento da *Escherichia coli*, que está associada ao aparecimento da diarreia após o desmame (Mikkelsen *et al.*, 2003). No conteúdo cecal o aumento significativo de butirato aquando da inclusão de sêmea de trigo está de acordo com os resultados de Stagonias e

Pearce (1985), que compararam a sêmea com outros tipos de fibra. Contudo, os resultados obtidos neste ensaio permitem estender este efeito à fibra do dreche de cerveja não lavado, que revelou resultados equivalentes aos da sêmea. Este facto pode resultar da fermentação das arabinosilanas cuja fermentação contribui para o aumento da concentração de butirato (Wang *et al.*, 2004; Bach Knudsen *et al.*, 2005), apesar de não ter existido um aumento significativo da actividade da xilanase. O butirato ao promover a colonização intestinal por *Lactobacillus* em detrimento da *Escherichia coli* (Jin *et al.*, 2000) tem um papel importante na saúde intestinal, potenciando um eventual efeito prébiotico.

5.4- Morfologia intestinal

Neste ensaio, um aumento do teor de fibra no regime fez aumentar a largura das vilosidades e a profundidades das criptas no duodeno, e a altura das vilosidades e a profundidade das criptas no íleo, efeito que se torna significativo com a inclusão de dresches de cerveja. No jejuno o efeito do teor de fibra não é claro dadas as diferenças que ocorrem entre as duas fontes distintas. Tais resultados não estão de acordo com Hedemann *et al.* (2006), cujo estudo não revelou alterações na morfologia intestinal. Contudo, permitem em parte estender os resultados de Jin *et al.* (1994) para porcos em crescimento ao jovem leitão, dado que apesar de não encontrarem diferenças na altura das vilosidades em regimes enriquecidos em fibra, registaram uma maior largura das vilosidades e uma maior profundidade das criptas no jejuno e íleo.

Os resultados deste ensaio levam a concluir que a sêmea de trigo não teve grande influência sobre a morfologia da mucosa intestinal, pois apenas fez aumentar de forma significativa a razão entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas, que indica uma menor taxa de migração dos enterócitos das criptas para as vilosidades. Já a inclusão de dreche de cerveja revela efeitos benéficos significativos na mucosa intestinal, dado que imediatamente após o desmame as vilosidades encurtam e as criptas ficam mais profundas, o facto de se ter registado três semanas depois um aumento na altura das vilosidades no jejuno e no íleo, leva a crer que os regimes com dreche tiveram um efeito importante no desenvolvimento da mucosa intestinal. Os resultados positivos da dreche de cerveja em relação à sêmea de trigo, poderá abrir perspectivas de que a fibra da dreche possa levar a uma maior capacidade digestiva do leitão, o que em certa medida está conforme com os resultados obtidos nas digestibilidades fecais aparentes da matéria seca, proteína e fracção mineral (**quadro 9**).

O aumento da proliferação das células das criptas pode ser explicado pelo efeito trófico do butirato, pois este não actua exclusivamente no cólon podendo também estimular a proliferação celular e o crescimento no intestino delgado (Bach Knudsen *et al.*, 2008).

Contudo, no intestino delgado os resultados encontrados revelam que os regimes com dreche de cerveja têm valores de butirato significativamente menores do que o regime base. Talvez estes resultados possam ser explicados pela estimulação mecânica provocada pela fibra, que influencia a divisão das células da mucosa intestinal ao aumentar a altura das vilosidades e profundidade das criptas (Graham e Aman, 1991).

VI – Conclusão

Os resultados obtidos neste ensaio confirmaram algumas consequências já conhecidas da inclusão de glúcidos parietais nos regimes, dado que somente para a actividade fermentativa e produção de ácidos gordos voláteis se encontraram alguns valores menos expectáveis, mas também evidenciaram que diferentes fontes de fibra promovem efeitos distintos, devido a diferenças nas proporções dos seus constituintes.

A redução, em termos gerais, que se verificou na actividade microbiana nos regimes com fibra incorporada não seria de todo previsível, dado que os polissacáridos não amiláceos são o principal substrato para as bactérias anaeróbias fermentativas no ceco e cólon.

A incorporação de dreches de cerveja aos regimes somente reduziu de forma significativa a digestibilidade fecal aparente da matéria seca em relação ao regime base. Comparativamente à sêmea, os regimes com dreche mostraram maiores coeficientes de utilização degestiva para a matéria seca, proteína bruta e fracção mineral. Em termos de digestibilidade fecal aparente pode-se concluir que o dreche de cerveja apresenta valores menos penalizantes em relação à sêmea de trigo. O efeito na melhoria da consistência das fezes foi notório quando se comparou o dreche de cerveja com a sêmea de trigo, mas também com o controlo negativo (regime base). Finalmente, o dreche de cerveja revelou também efeitos positivos nos parâmetros estudados referentes à morfologia intestinal, em relação ao regime base e comparativamente à sêmea, indicando uma boa adaptação do leitão ao regime e uma boa recuperação das alterações sofridas aquando do desmame.

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que não se justificou a lavagem do dreche dado que só pontualmente teve efeitos distintos do dreche não lavado. Em termos de um potencial efeito prébiotico do dreche de cerveja, tal ficou descartado após a análise dos açúcares livres. Os resultados obtidos levam então a concluir que a fibra do dreche de cerveja tem alguns efeitos benéficos principalmente em relação à sêmea de trigo, em termos de digestibilidade, consistência das fezes e morfologia intestinal, mas sem indicações claras da existência de um efeito prébiotico.

Referências bibliográficas

- **Amaefule, K.U., Ibe, S.N., Abasiokong, S.F., Onwudlike O.C.** (2006). Response of Weaner Pigs to Diets of Different Proportions and High Levels of Palm Kernel Meal and Brewers Dried Grain in the Humid Tropics. *Pakistan Journal of Nutrition* 5: 461-466.
- **Anguita, M., Canibe, N., Pérez, J.F., Jensen, B.B.** (2006). Influence of the amount of dietary fiber on the available energy from hindgut fermentation in growing pigs: Use of cannulated pigs and in vitro fermentation. *Journal of Animal Science* 84: 2766–2778.
- **Aquarone, E., Lima, U., Borzani, W.** (1985). Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. Edgard Blücher Ltda., S.P., Brazil, Vol. 5: 44-78.
- **Aumaitre, A., Painiau, J., Madec, F.** (1995). Digestive adaptation after weaning and nutritional consequences in the piglet. *Pig News and Information*, 16: 73N-79N.
- **Bach Knudsen, K.E.** (2001). The nutritional significance of “dietary fibre” analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 90: 3-20.
- **Bach Knudsen, K.E., Jørgensen H., Canibe, N.** (2000). Quantification of the absorption of nutrients derived from carbohydrate assimilation: model experiment with catheterised pigs fed on wheat- or oat-based rolls. *British Journal of Nutrition* 84: 449-458.
- **Bach Knudsen, K.E., Lærke, H.N., Hedemann, M.S.** (2008). The role of fibre in piglet gut health. In: *Gut efficiency: the key ingredient in pig and poultry production – Elevating animal performance and health*, Eds: J.A. Taylor-Pickard, P. Sprin., Wageningen Acadm. Publishers, 65-94.
- **Bach Knudsen, K.E., Serena, A., Kjaer, A.K., Jørgensen, H., Engberg, R.** (2005). Rye bread enhances the production and plasma concentration of butyrate but not the plasma concentrations of glucose and insulin in pigs. *Journal of Nutrition*, 135: 1696-1704.
- **Bailey, R.W.** (1973). Structural carbohydrates. In: *Chemical and biochemistry of herbage*. Ed. Buttler, G.W., Bailey, R.W. Vol. 1, Acad. Press, N.Y., 157-211.
- **Bartosch, S., Woodmansey, E.J., Paterson, J.C., McMurdo, M.E.M. and Macfarlane, G.T.** (2005) Microbiological effects of consuming a synbiotic containing *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis* and oligofructose in elderly patients, determined by real-time polymerase chain reaction and counting of viable bacteria. *Clin Infect Dis* 40, 28–37.
- **Baserga, R.** (1985). *The Biology of Cell Reproduction*. p. 46. Harvard University Press, Cambridge, M.A.
- **Bergman, E.N.** (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiology Reviews*, 70: 567-590.

- **Bindelle, J., Leterme, P., Buldgen, A.** (2008). Nutritional and environmental consequences of dietary fibre in pig nutrition. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 69-80.
- **Boessinger M., Hug, H., Labor V.** (2005). Les drêches de brasserie, un aliment protéique intéressant. Union Suisse de brasseurs, Zurich.
- **Buddington, R.K.** (1997). Intestinal nutrient transport during the life history of swine. In: J. Laplace, C. Février, A. Barbeau, (Eds). *Digestive physiology in pigs*. EAAP, 80:103-112.
- **Candela, C., Cos Blanco, A., Rosado, C.** (2002). Fibra y nutrición enteral. *Nutrición Hospitalaria*. XVII: 30-40.
- **Carneiro, M.S.C., Lordelo, M.M., Cunha, L.F., Freire, J.P.** (2008). Effects of dietary fibre source and enzyme supplementation on faecal apparent digestibility, short chain fatty acid production and activity of bacterial enzymes in the gut of piglets. *Animal Feed Science Technology*. 146: 124-136.
- **Chabeauti, E., Noblet, J., Carré, B.** (1994). Digestion of plant cell walls from four different sources in growing pigs. *Animal Feed Science Technology*. 31: 207-213.
- **Christensen, D.N., Bach Knudsen, Wolstrup, B., Jensen, B.** (1999). Integration of ileum cannulated pigs *in vitro* fermentation to quantify the effect of diet composition on the amount of SCFA available from fermentation in the large intestine. *Journal Science Food Agriculture*, 79: 755-762.
- **Cosgrove, D.J.** (2005). Growth of plant cell wall: a review. *Nature*, 11/2005, 6:850-861.
- **Cummings, J. A.** (1995). Short chain fatty acids. In: *Human Colonic Bacteria: Nutritional, physiological and pathological aspects*. Ed. Macfarlane, G., Gibson, G. CRC Press. pp 101-130.
- **Cummings, J.H.** (1993). Quantifying SCFA production in human. In: SCFA. Ed. Binder, H.J., Cummings, J.H. and Soergel, K. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London. 11-19.
- **Cummings, J.H., Macfarlane, G.T.** (1991). A review: the control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *Journal Appl. Bacteriology*, 70: 443-459.
- **Cunha, L.F.** (1988). Os constituintes da parede celular no processo digestivo do coelho. Dissertação para obtenção do grau de doutor em agronomia, I.S.A, Lisboa.
- **De Vries, J.W.** (2003). On defining dietary fibre. *Proceed. Nutrition Society*, 62: 37-43.
- **Dierick, N.A., Vervaeke I.J., Demeyer, D.I., Dewypere, J.A.** (1989). Approach to the energetic importance of fibre digestion in pigs. Importance of fermentation in the overall energy supply. *Animal Feed Science and Technology*, 23: 141-167.
- **Doureau, M., Chilliard, Y.** (1997). Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition*, 78, S15-S35.

- **Edwards, C.A., Parrett, A.M.** (2003). Dietary fibre in infancy and childhood. *Proceedures of the Nutrition Society*, 62: 17-23.
- **Eeckhout, W. De Paeper, M.** (1994). Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Animal Feed Science Technology*, 47: 19-29.
- **Ellis, P.R., Roberts, F.G., Low, A.G., Morgan, L.M.** (1995). The effect of high-molecular-weight guar gum on net apparent glucose absorption and net apparent insulin and gastric inhibitory polypeptide production in the growing pig: relationship to rheological changes in jejunal digesta. *British Journal of Nutrition*, 74: 539-556.
- **Engelhard, W.V., Ronnau, K., Rechkemmer, G., Sakata, T.** (1989). Absorption of SCFA and their role in the hindgut of monogastric animals. *Animal Feed Science Technology*, 23:43-53.
- **Englyst, H. N., Wiggins, H. S. & Cummings, J. H.** (1982). Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst* 107: 307-3 18.
- **Englyst, H.N., Kingman, S.M., Hudson, G.J., Cummings, J.H.** (1996). Measurement of resistant starch *in vitro* and *in vivo*. *British Journal Nutrition*, 75:749-755.
- **Englyst, H.N., Shay, G.T., Macfarlane, S.** (1987). Polysaccharide breakdown by mixed populations of human faecal bacteria. *FEMS microbiology ecology*, 95: 163-171.
- **Fan, M.Z., Stoll, B., Jiang, R., Burrin, D.G.** (2001). Enterocyte digestive activity along the crypt-villus and longitudinal axes in the neonatal pig small intestine. *Journal Animal Science*, 79: 371-381.
- **Fernandes, C.** (2002). Estudo da optimização das condições de propagação da levedura de cerveja. Relatório Trabalho Fim de curso de Eng. Agro-Industrial. I.S.A., Lisboa.
- **Frandsen, R.D.** (1976). Anatomia e fisiologia dos animais domésticos, 2ª Ed., Kogan.
- **Freire, J.P.B.** (1998). Maneio alimentar dos leitões: Adaptação digestiva ao regime de desmame. 1^{as} Jornadas Internacionais de Suinicultura, U.T.A.D., Vila Real, 111-119.
- **Freire, J.P.B., Dias, R.I.M., Cunha, L.F., Aumaitre, A.** (2003). The effect of genotype and dietary fibre level on the caecal bacterial enzyme activity of young piglets: digestive consequences. *Animal Feed Science Technology*, 106: 119-130.
- **Freire, J.P.B., Gurerreiro, A.J.G., Cunha, L.F., Aumaitre, A.** (2000). Effect of dietary fibre source on total tract digestibility, caecum volatile fatty acids and digestive transit time in the weaned piglet. *Animal Feed Science and Technology*, 87: 71-83.
- **Freire, J.P.B., Peiniau, J., Cunha, L.F., Almeida, J.A.A., Aumaitre, A.** (1998). Comparative effects of dietary fat and fibre in Alentejano and Large White piglets: Digestibility, digestive enzymes and metabolic data. *Livestock Prod. Science*, 53: 37-47.

- **Furlan, A.C., Scapinello, C., Toral, F.L.B., Faria, H.G., Moreira, I. Murakan, A.E., Santolin, M.L.R.** (2003). Valor nutritivo, desempenho de coelhos alimentados com rações contendo milheto (*Pennisetum glaucum* L.). Revista Brasileira de Zootecnia, vol. 32, 123-131.
- **Gaskins, H.R.** (2005). Host and intestinal microbiota negotiations in the context of animal growth efficiency. In: Midwest swine nutrition conference proceedings, Indianapolis, 35-43.
- **Gibson, G.R., Roberfroid, M.B.** (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition, 125: 1401-1412.
- **Gidenne, T., Carabano, R., Garcia, J., de Blas, C.** (1998). Fibre Digestion in the nutrition of the rabbit. Animal Feed Science Technology, 69-88.
- **Graham, H., Aman, P.** (1991). Nutritional aspects of diet fibres. Animal Feed Science Technology, 32: 143-158.
- **Grieshop, C.M., Reese, D.E., Faley, G.C.** (2001). Non starch polysaccharides and oligosaccharides in swine nutrition. In: Swine nutrition, 2nd edition, 108-125.
- **Guy-Grand, B., Rocha, B., Vassalli, P.** (1993). Origin and development of gut intraepithelial lymphocytes, In: H. Kiyono, J.R. McGhee (Eds.), Mucosal Immunology, Raven Press, N.Y., 21-31.
- **Ha, M-A., Jarvis, M.C., Mann, J.I.** (2000). Review: A definition for dietary fibre. European Journal of Clinical Nutrition, 54: 861-864.
- **Harland, B.F.** (2006). Dietary fibre and mineral bioavailability. Nutrition Research Reviews, 2: 133– 147.
- **Hedemann, M.S., Eskildsen, M., Lærke., H.N., Pedersen, C., Lindberg, J.E., Laurinen, P., Bach Knudsen, K.E.** (2006). Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber properties. Journal Animal Science, 84: 1375-1386.
- **Hinterleitner, T.A., Powell, D.W.** (1991). Imune system control of intestinal ion transport. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 197:249-260.
- **Houdijk, J.G.M., Hartemink, R., Van Laere, K.M.J., Williams, B.A., Bosch, W., Verstegen, M.W.A., Tamminga, S.** (1997). FOS and TOS in weaner pig's diet. In: Proc. of the International Symposium of NDO "Healthy food for colon?". Wageningen, NL.
- **Huang, S.X., Sauer, W.C., Marty, B.** (2001). Ileal digestibilities of neutral detergent fiber, crude protein, and amino acids associated with neutral detergent fiber in wheat shorts for growing pigs. Journal of Animal Science, 79: 2388-2396.
- **Huigh, N.J.** (1994). Brewery by-products and effluents. In: Hardwick, W.A. (Ed.), Handbook of brewery. Marcel Dekker, N.Y., 501-550.

- **INRA** (2004). Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. Ed: D. Sauvant, J.-M. Perez, G. Tran, 2^e édition, Paris.
- **Jaskari, J.P., Kontula, A., Siitonen, H., Soumer, T.J., Sandholm, M., Poutanen, K.** (1998). Oat beta-glucan and xylan hydrolysates as selective substrates for *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains. Appl. Envr. Microbiol. Biotechnol. 49 : 175-181.
- **Jehl, N., Gidenne, T., Le Roux, J.F.** (1996). Measurements of the bacterial fibrolytic activity in the caecum and in the soft faeces of the rabbit. In: Lebas, F. (Ed.), Proceedings of the 6th World Rabbit Congress, Ass. Fr. Cuniculture, Lempdes, France, 1: 199–203.
- **Jensen, B.B.** (1998). The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs. Journal of Animal and Feed Sciences, 7: 45-64.
- **Jensen, S.L., Fahrenkrus, J., Holts, J.J., Nielsen, O.V., Shaftalitzty, M.B.** (1978). Secretory effect of V.I.P. on isolated perfused porcine pancreas. Animal Journal Physiology, 235, 387-391.
- **Jeracy, J.L., Lewis B.A.** (1984). Determination of soluble fibre components: (1-3)(1-4)- β -D-glucans and pectins. Animal Feed Science and Technology, 23: 15-25.
- **Jin, L., Reynolds, L.P., Redmer, D.A., Caton, J.S., Crenshaw, J.D.** (1994). Effects of dietary fiber on intestinal growth, cell proliferation and morphology in growing pigs. Journal of Animal Science. 72:2270-2278.
- **Jin, L., Marquardt, R.R., Baidoo, S.K.** (2000). Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. Journal Science Food Agriculture. 80, 619–624.
- **Jørgensen, H., Larsen, T., Zhao, X-Q., Eggum, L.B.** (1997). The energy of SCFA infused into the caecum of pigs. British Journal of Nutrition, 77: 745-756.
- **Jouany, J.P.** (1982). Volatile fatty acids and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures, and anaerobic fermentor contents. Sci. Alim., 2: 131-144.
- **Kagnoff, M.F.** (1993). Immunology of the intestinal tract. Gastroenterol, 105: 1275-1280.
- **Kanauchi, O., Mitsuyama, K., Araki, Y.** (2001). Development of a functional germinated barley foodstuff from brewers' spent grain for the treatment of ulcerative colitis. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 59: 59–62.
- **Kidder, D.E., Manners, M.J.** (1978). Digestion in the pig. Sciencetechnica. Bristol, G.B.
- **Knudsen K.E.B., Jensen B.B., Hansen I.** (1993). Digestion of polysaccharides and other components in the small and large intestine of pigs fed on diets consisting of oat fractions rich in β -D-glucans. British Journal of Nutrition, 70: 537-556.

- **Knudsen, K.E.B., Hansen, I.** (1991). Gastrointestinal implications in pigs of wheat and oat fractions. 1. Digestibility and bulking properties of polysaccharides and other major constituents. *British Journal of Nutrition*, 65: 217-232.
- **Komuro, T. Hashimoto, Y.** (1990). Three-dimensional structure of the rat intestinal wall (mucosa and submucosa). *Archives of Histology and Cytology*, 53: 1-21.
- **Konstantinov, S.R., Zhu W.Y., Williams A.B., Tamminga, S., de Vos, W.M., Akkermans, A.D.L.** (2003). Effect of fermentable carbohydrate on piglet faecal bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA. *Fems Microbiology Ecology*, 43: 225-235.
- **Kornegay, E.T.** (1973). Digestible and metabolizable anergy and protein utilization values of brewers dried by-products for swine. *Jornal of Animal Science*, 37:479.
- **Kvasnitskii, A.V.** (1951). Problems of Digestive Physiology in Pigs. Moscow.
- **Leibholz, J.** (1985). The digestion of protein in young pigs and the utilization of dietary metionine. *British Journal of Nutrition*, 53: 137-147.
- **Lindquist, S.** (1986). The heat shock response. *Ann. Rev. Biochem.* 55, 1151-1191.
- **Loeffler, M., Grossman, B.** (1991). A stochastic model with formation of subunits applied to the growth of intestinal crypts. *Journal of Theoretical Biology*, 150: 175-191.
- **Longland, A.C.** (1991). Digestive enzyme activities in pig and poultry. In: *In vitro* digestion for pigs and poultry, Ed. Fuller, M.F., Scotland, 2-18.
- **Macfarlane, G.T., Steeds, H., Macfarlane, S.** (2007). Review Article: Bacterial metabolism and health-related effects of GOS and other prebiotics. *Journal of Applied Microbiology*.
- **Macfarlane, S., Macfarlane, G.T., Cummings, J.H.** (2006). Review Article: Prebiotics in the gastrointestinal tract. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 24: 701-714.
- **Macleod, A.M.** (1979). The physiology of malting, in: Pollock, J.R.A. (Ed.), *Brewing Science*, vol. 1. Academic Press, New York, pp. 145–232.
- **Manners., M.J.** (1976). The development of digestive function in the pig. *Procedures Nutrition Society*, 35-39.
- **McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D.** (1995). *A. N.*, 5th Ed. Longman, U.K, 142-175.
- **McDougall, G.J., Morrison, I.M., Stewart, D., Hillman, J.R.,** (1996). Plant cell walls as dietary fibre: Range, structure, processing and function. *J. Sci. Food Agric.*, 70, 133-150.
- **Meunier-Salaün, M.C., Edwards S.A., Robert., S.** (2001). Effect of dietary fibre on the behaviour and health of the restricted sow. *Animal Feed Science and Technology*, 90: 53-69.

- **Miguel, J.C., Pettigrew, J.E.** (2005). The emerging Picture of diet effects on gastrointestinal microbial populations. In: Midwest swine nutrition conference proceedings, Indianapolis, 45-57
- **Mikkelsen, L.L., Jakobsen, M., Jensen, B.B.** (2003). Effects of dietary oligosaccharides on microbial diversity and FOS degrading bacteria in faeces of piglets post-weaning. *Animal Feed Science and Technology*, 109: 133-150.
- **Miller, G.L.** (1959). The use of dinitro-salicylic reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.*, 31: 426-428.
- **Montagne L., Pulske, J.R., Hampson, D.J.** (2003). A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal Feed Science Technology*, 108: 95-117.
- **Moran, E.T.Jr.** (2008). Intestinal balance and equilibrium: setting the scene for health and management. In: Gut efficiency: the key ingredient in pig and poultry production – Elevating animal performance and health, Eds: J.A. Taylor-Pickard, P. Sprins. Wageningen Academic Publishers, 97-109.
- **Morrison, I.M.** (1979). Symposium on Carbohydrate metabolism in ruminant: carbohydrate chemistry and rumen digestion. *Proceedings Nutrition Society*, 38: 269-274.
- **Mosenthin, R., Hambrecht, E.** (1999). Utilization of different fibres in piglet feeds. In: Recent advances in animal nutrition. Ed. Garnsworthy, P.C. and Wiseman, J., Nottingham University press, U.K., 293-322
- **Moura, F., Sobral, J.** (1987). Fabricação da cerveja: ciência ou arte?. S.C. Cervejas, Vialonga.
- **Mroz, Z., Bakker, G.C.M., Jongbloed, A.W., Dekker, R.A., Jongbloed, R., van Beers, R.** (1996) apparent digestibility of nutrients in diets with different energy density as estimated by direct and marker methods for pigs with or without ileo-cecal cannulas. *Journal of Animal Science*, 74: 403-412.
- **Mul, A.J., Perry, F.G.** (1994). The role of fructo-oligosaccharides in animal nutrition. In: Garnsworthy, P.C., Cole, D.J.A. (Eds.), Recent Advances in Animal Nutrition, Nottingham University Press, Loughborough, pp. 57–79.
- **Mussatto, S.I., Dragone, D., Roberto, I.C.** (2006). Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science* 43: 1-14.
- **Mussatto, S.I., Roberto, I.C.** (2005). Acid hydrolysis and fermentation of brewers' spent grain to produce xylitol. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- **Neutra, M.R., Forstner, J.F.** (1987). Gastrointestinal mucus: synthesis, secretion and function. In: L.R. Johnson (Ed.), Physiology of the gastrointestinal tract, 2nd edition, Raven Press, N.Y.

- **Newport, T., Howarth, G.** (1985). Contribution of gastric lipolysis, to the digestion of fat in neonatal pig. In: Proc. of the 3rd International Sem. on digestive physiol. in the pig, Just, A., Jørgensen, H., Fernandez, J., Eds., Barenting statens Husdyrbugsforsog No.580, Copenhagen, Denmark, 143.
- **Noblet, J., Fortune, H., Dubois, S.** (1993). Digestible, metabolizable and net energy values of 13 feedstuffs for growing pigs: Effect of energy system. Animal Feed Science and Technology, 42, 131–149.
- **Northcote, D.H.** (1958). The cell walls of higer plants: their composition, structure and growth. Biological Reviews, 33: 53-102.
- **NRC**, (1998). Nutrient Requirement of Swine, 10th ed. Nat. Acd. Press, Washington
- **Oli, M.N., Petschow, B.W., Buddingston, R.K.** (1998). Evaluation of fructo-oligosaccharide supplementation of oral electrolyte solutions for treatment of diarrhoea recovery of intestinal bacteria. Dig. Dis. Sci., 43: 138-147.
- **Oluponna, J.A., Abodunwa J.A., Adejinmi O.O., Ogunleke F.O., Fapohunda J.B, Olubodun** (2002). Performance of rabbits fed brewers' dried grain from different sources. Proceedings 27th Annual Conf., Nig. Society for Anim. Prod. Fed. Univ. of Technol. Akure, Nigeria, pp: 239-241.
- **Pais, M.S., Barroso, J.M.** (2005). A célula vegetal. In: Biologia celular e molecular, 4^a Ed. Coord. C. Azevedo, Lidel-Ed. Técnicas, Lisboa, 523-551.
- **Pak, N.** (1997). Analisis de fibra dietetica. In: produccion y manejo de dados de composicion quimica de alimentos en nutricion, Cap. 16, FAO, Universidade de Chile.
- **Park, Y.W., Baba, K., Furuta, Y., Lida, I., Sameshima, K., Arai, M., Hayashi T.,** (2004). Enhancement of growth and cellulose accumulation by overexpression of xyloglucanase in poplar. FEBS, 564: 183-187.
- **Pires de Lima, Mariana,** (2005). Alternativas à utilização de antibióticos promotores de crescimento: utilização de probióticos, prebióticos e extractos vegetais no regime pós-desmame de leitões. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Engenharia Agronómica. Lisboa, 2005.
- **Pirman, T., et al.** (2007). Dietary pectin stimulates protein metabolism in the digestive tract. Nutrition, 23: 69-75.
- **Pomeranz and Chairman** (1973). Industrial uses of cereals. A.A.C.C.,Minnesota,USA.
- **Pond, N.G., Church, D.C., Pond, K.R., Schoknecht, P.A.** (2005). Nutrient metabolism. In: Basic animal nutrition and feeding, 5th Ed. J. Willey and Sons, Inc. 25-290.
- **Pulske, J.R.** (2001). Morphological and functional changes in the small intestine of new weaned pigs. In: Gut environment of pigs. Ed. A. Piva, K. E. Bach Knudsen, J.E., Lindberg. The Nottingham University press, 1-29.

- **Rainbird, A.L., Sissons, J.W.** (1985). Effect of gastric cannulation motility in the pig. In: Proceedings of the 3rd International seminar on digestive physiology in the pig. Just H., Jørgensen, Fernandez J. Ed. Copenhagen National Institute of Animal Science. 69-71.
- **Rasic, D.L., Kurman, J.A.** (1983). Bifidobacteria and their role. Birkhauser Verlag, SZ.
- **Ratcliffe, B.** (1991). The role of the microflora in digestion. In: *In vitro* digestion for pigs and poultry. Ed. M.F. Fuller, Scotland, 19-34.
- **Read, N.W.** (1990). Pharmaceutical aspects of dietary fibre. In: Dietary fibre: Chemical and Biological Aspects (Special publication, nº85). Eds. Southgate, D.A.T., Waldron, K.W., Jonson, I., Fennick, G.R. Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K, 340-349.
- **Reed, G., Rehm, H.J.** (1983). Biotechnology - A comprehensive treatise in 8 volumes. Vol.5 – Food and feed production with microorganisms, Cap. 3. Verlag Chemie, Deerfield Beach, Florida.
- **Reis, T.A.F.** (2000). Avaliação das potencialidades biotecnológicas de xilanases de *Clostridium thermocellum* e *Cellulibrio mixtus*. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Eng. Agrônoma. ISA, 44pp.
- **Roberfroid M.** (2007). Prebiotics: The concept revisited. J. Nutrition, 137: 830S-837S.
- **Roberts, K.** (1990). Structures at the plant cell surface. Current Opinion Cellular Biology, 2: 920-928.
- **Rojas, R., Apodaca, G.,** (2002). Immunoglobulin transport across polarized epithelial cells. Molecular Biology, 3: 944-955.
- **Sajilata, M.G., Singhal R.S., Kulkarni, P.R.** (2006). Resistant starch – a review. Compr. Rev. Food Science, 5: 1-17.
- **Sambrook, I.E.** (1981). Journal of the science of food and agriculture, 32: 781-791.
- **Santos, M., Jiménez, J.J., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C., del Nozal, M.J.** (2002). Variability of brewer's spent grain within a brewery. Food Chemistry, 80:17-21.
- **SAS,** (1991). SAS Systems for Linear Models, 3th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- **Selvedran, R.R.** (1984). The plant cell wall as a source of dietary fiber: chemistry and structure. American Journal of Clinical Nutrition, 39: 320-337.
- **Serena, A., Hedemann, M.S., Bach Knudsen, K.E.** (2007). Feeding high fibre diets changes luminal environment and morphology in the intestine of sows. Livestock Science, 109: 115-117.

- **Simpson, J.M., McCracken, V.J., White, B.A., Gaskins, H.R., Machie, R.I.** (1999). Application of denaturant gradient gel electrophoresis for the analysis of the porcine gastrointestinal microbiota. *Journal Microbiology Methods*, 36: 167–179.
- **Smithson, K.W., Jacobs, L.R., Gray, G.M.** (1981). Intestinal diffusion barrier: unstirred water layer or membrane surface mucous coat? *Science*, 214: 1241-1243.
- **Southgate, D.A.T., Englyst H.** (1985). Dietary fibre: Chemistry, physical properties and analysis. In: *Dietary fibre, fibre-depleted foods and disease*. Ed. Trowell, Burkitt D., Heaton K., London, 31-35.
- **Stagonias, G., Pearce, G.R.** (1985). The digestion of fibre in the pigs. 1. The effects of amount and type of fibre on apparent digestibility, nitrogen balance and rate of passage. *British Journal of Nutrition*, 53: 513-530.
- **Stagonias, G., Pearce, G.R.** (1985). The digestion of fibre by pigs. 2. Volatile fatty acid concentrations in large intestine digesta. *British Journal of Nutrition*, 53: 531–536.
- **Talmadge, K.W., Keegstra, K., Bauer, W.D., Albershaim, P.** (1973). The Structure of plant cell wall (1). *Plant Physiology*, 51: 158-173.
- **Theander, O., Westerlund E., Aman, P.** (1989). Plant cell walls and monogastric diets. *Animal Feed Science and Technology*, 23: 205-223.
- **Varley, M. Miller, B.** (2002). Gut Health and immunity in youg pigs. In: *Recent advances in animal nutrition*. Ed. P.C. Garnsworthy, J. Wiseman. Nottingham University Press, 195-209.
- **Van Dijk, J.E., Huisman, J., Koninkx, J.F.J.G.** (2002). Structural and functional aspects of a healthy gastrointestinal tract.
- **Van der Klis, J.D., Jansman, A.J.M.** (2002). Optimising nutrient digestion, absorption and gut barrier function in monogastrics: reality or illusion? In: *Nutrition and health of the gastrointestinal tract*. Ed: M.C. Blok *et al.*, Wageningen Academic Publishers, 15-33.
- **Van Soest, P.J., McQueen, R.W.** (1973). The chemistry and estimation fibre. *Procedures Nutrition Science*, 32. 123-130.
- **Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A.** (1991). Carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implications in dairy cattle. *Journal Dairy Science*, 74: 3583-3597.
- **Varel, V.H.** (1987). Activity of fibre-degrading microorganisms in the pig large intestine. *Journal of Animal Science*, 65: 488-496.
- **Vaughn, L.E., Holt, P.S., Moore, R.W., Mast, R.K.** (2006). Enhanced gross visualization of chicken peyer's patch: novel staining technique applied to fresh tissue specimens. *Avian Diseases*, 50: 298-302.

- **Verdugo, P.** (1990). Goblet cell secretion and mucogenesis. *Annual Reviews Physiology*, 52: 157-176.
- **Vietor, R.J., Voragen, A.G.J., Angelino, S.A.G.F.** (1993). Composition of non-starch polysaccharides in wort and spent grain from brewing trials with malt from a good malting quality barley and a feed barley. *Journal of the Institute of Brewing* 99: 243–248.
- **Vincken, J-P., Schols, H.A., Oomen, R.J.F.J., McCann, M.C., Ulvskov, P., Voragen, A.G.J., Visser, R.G.F.** (2003). If Homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for Cell Wall Architecture. *Plant Physiology*, 132: 1781-1789.
- **Wahlstrom, R., Libal, C.** (1976). Brewers dried grains as a nutrient source in diets for pregnant sows. South Dakota State University.
- **Wang, J.F., Zhu, Y.H., Li, F.D., Wang, Z., Jensen, B.B.** (2004). In vitro fermentation of various fiber and starch sources by pig fecal inocula. *Journal of Animal Science*, 82: 2615-2622.
- **Wellock, I.J., Houdijk, J.G.M., Kyriazakis, I.** (2007). Effect of dietary non-starch polysaccharide solubility and inclusion level on gut health and the risk of post weaning enteric disorders in newly weaned piglets. *Livestock Science*, 108:186-189.
- **Wenk, C.** (2001). The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. *Animal Feed Science and Technology*, 90: 21-33.
- **Wilfart, A., Montagne, L., Simmins, P.H., van Milgen, J., Noblet, J.** (2007). Sites of nutrient digestion in growing pigs: Effect of dietary fiber. *Journal of Animal Science*, 85: 976-983.
- **Wiseman, J.** (1984). Assessment of the digestible and metabolizable energy of fats for non ruminant. In: *Fats in animal nutrition*. Ed. Wiseman, J., Butterworths, London. 277-297.
- **Wood, P.J.** (1986). Oat β -glucan structure, location and properties. In: *Oats chemistry and technology*. F.H. Webster (ed.) Minnesota, AACC, Inc., 121-152.
- **Yaakugh, I.D.I., Tegbe, T.S.B., Olorunju, S.A.S., Aduku, A.O.** (1994). Replacement value of brewer's dried grains for maize on performances of pigs. *Journal Science Food Agriculture*, 66: 465-471.
- **Yen, J.T.** (2001) Anatomy of the digestive system and nutritional physiology. In *Swine Nutrition*, 2nd edition, Ed. A.J. Lewis, L.L. Southern, CRC Press, New York, 32-58.